



УДК 616-006.446.2

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ МОДАЛЬНОГО КЛАССА КЛЕТОК ПОПУЛЯЦИИ КОСТНОГО МОЗГА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ В ПЕРИОД РЕМИССИИ

И.Г. Богуш<sup>1</sup>, П.И. Шабалкин<sup>1</sup>  
А.С. Ягубов<sup>1</sup>, Т.В. Павлова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва*

<sup>2</sup> *Белгородский государственный университет*

*e-mail: doc.bogush@mail.ru*

Методом цитофотометрии установлено, что для ранней оценки эффективности терапии целесообразно использовать такие количественные параметры как коэффициент функциональной активности генома клетки (К-фаген) и переход модального (доминирующего) в популяции класса клеток из одного разряда в другой.

Ключевые слова: костный мозг, острый лейкоз.

При онкогенезе происходят изменения функционального состояния генома клеток тканей организма – опухоленосителя. Существуют различные подходы в оценке функционального состояния клеточной популяции органа или тканей организма.. Так существуют критерий К-фаген [3] и модальный класс функционально активных клеток [1, 2, 5]. К-фаген – коэффициент функциональной активности генома клетки выведен из отношения величины гистон/ДНК после определения с помощью метода цитофотометрии оптической плотности ядра, окрашенного по Фельгену (количественная оценка содержания ДНК в клетке) и нафтоловым желтым S (оценка количества гистонов в клетке). Наряду с оценкой функционального состояния популяции по величине К-фаген важно применить методы основанные на сдвиге количественно доминирующего в популяции класса клеток. При сравнении гистограммы распределения клеток с различными значениями К- фаген опухолевых клеток относительно модального класса нормальных клеток известно, что более трети опухолевых клеток, идентичных по своему функциональному состоянию клеткам/ткани, располагается слева от модального класса нормальных клеток, то опухоль повышает степень функциональной активности генома клеток органа (ткани), на которое направлено действие опухоли, если справа – опухоль оказывает противоположное действие [4]. Целью данного исследования являлся сравнительный анализ сдвига модального класса одной популяции клеток относительно другой, для характеристики функциональных событий, происходящих при этом в организме-опухоленосителя.

**Материалы и методы исследования.** Для выделения модального класса клеток, оцениваемых по критерию К-фаген, были найдены минимальное и максимальное значения К фаген гистограмм клеток опыта и контроля. Были выбраны самая малая и большая величины К-фаген, определены пределы для построения общей гистограммы клеток, которую разделили на 3 равные части. Было определено процентное число клеток опыта и стандарта, соответствующих каждому разряду. После чего было найдено процентное число клеток обеих популяций, приходящихся на каждый разряд.

Для исследования были использованы мазки костного мозга от 5 больных – с острым лимфобластным лейкозом, проходящих курс лечения в РОНЦ им Н.Н.Блохина РАМН. Контролем (стандартом) служил костный мозг от 3 доноров, который был взят из банка костного мозга РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. Препараты обрабатывали по описанной ранее методике [3]. Для статистического анализа материала использовали критерий Стьюдента. Результаты оценивались с надежностью не менее 0,95.

**Результаты клинических наблюдений.** Период ремиссии или наступление рецидива при гемобластозах оценивался с помощью цитологического метода. При наличии в популяции около 5% и выше патологических (бластных) клеток имеет место рецидив заболевания, при меньших значениях – ремиссия. Однако, как показывают биохимические и иммунологические исследования, при оценке состояния клеточных

популяций только по проценту бластных клеток теряется достаточно большой объем информации. С целью иллюстрации данного фактора, нами приведены следующие больные.

Пример 1. Больной Ш. (табл. 1, 1-ая группа сравнения), прошел курс лечения и к началу нашего исследования по клиническим показателям был близок к пороговому значению рецидива, так как в популяции костного мозга больного выявлено 4,8% бластных клеток. Проведение реиндукции (повторного курса химиотерапии) позволило через месяц снизить долю бластных клеток до 3%. Причем, после реиндукции в модальном классе клеточной популяции костного мозга, доля клеток уменьшилась на 10% (57% до реиндукции и 47% после). Наряду с этим, у больного после реиндукции увеличилась доля клеток во 2-ом и 3-ем разрядах общей гистограммы сравнения. Этот факт указывает, что наблюдается тенденция к улучшению состояния больного увеличение количества клеток справа от модального класса соответствует появлению в популяции клеток более высодифференцированных, чем в модальном классе.

Таблица 1

**Распределение клеток костного мозга по величине К-фаген в пределах 1-3 разрядов общей гистограммы группы сравнения до и после проведения курса реиндукции больному Ш**

Объект исследования	Среднее значение К-фаген	% бластных клеток	Доля клеток в 1-3 разрядах гистограмм		
			1	2	3
Больной Ш. до проведения реиндукции	1,18 (1,12-1,24)	4,8	57	37	6
Больной Ш. через 1 мес. после реиндукции	1,11 (1,06-1,16)	3,0	47	43	10
Больной Ш. через 4 мес. после реиндукции	1,16 (1,11-1,21)	1,6	37	53	10
Больной Ш. через 9мес. после реиндукции	0,99 (0,93-1,05)	5,2	62	29	9
Больной Х. при установлении ЭМР	1,46 (1,39-1,53)	3,0	30	57	13
Больной Х. через 9мес. наблюдения	1,31 (1,27-1,35)	2,0	59	38	3
Норма (донор)	1,46 (1,40-1,51)		5	79	8
Больной Л. в период ремиссии	1,26 (1,20-1,32)		36	56	8

В силу того, что популяция лимфобластных клеток состоит, в основном из низкокодифференцированных элементов, то увеличение в популяции костного мозга больного доли высококодифференцированных клеток свидетельствует о положительном эффекте проведенной терапии. Наблюдение за больным показало, что тактика лечения была правильной. Как можно видеть из табл. 1, через 4 месяца после реиндукции произошел сдвиг модального класса клеток костного мозга больного вправо, что соответствовало увеличению в популяции костного мозга больного доли клеток идентичных норме. На это указывали данные, полученные цитоморфометрическим методом: доля бластных клеток снизилась с 4,8% до 1,6%. При проведении сравнительного анализа по результатам, представленным в табл. 1 было показано, что проведение больному Ш. повторного курса химиотерапии было недостаточно эффективным. Во-первых, доля бластных клеток за 3 месяца (период между 1 и 4 месяцами после реиндукции) снизилась на 1,4%. Во-вторых, в этот период из модального класса клеток костного мозга больного, приходящегося на первый разряд, перешло во второй разряд всего 10% клеток. В то время, как теоретически положительный оптимальный эффект терапии должен был бы привести к тому, что в первом разряде, куда входят, в основном низкокодифференцированные клетки (идентичные по уровню функциональной активности своего генома лимфобластным клеткам), всего оказалось несколько процентов таких клеток. То обстоятельство, что через 4 месяца после реиндукции в первом разряде осталось 37% клеток, указывает на реальную возможность рецидива в скором будущем. Действительно, в дальнейшем (в последующие 5 месяцев) в популяции костного мозга



больного произошел сдвиг модального класса клеток влево, то есть в сторону злокачественной трансформации. Таким образом, из наблюдения за состоянием клеточной популяции костного мозга больного Ш. можно прийти к заключению, что анализ клеточной популяции с учетом количественных изменений в модальном классе клеток даст возможность оценить эффективность химиотерапии, а также прогнозировать наступление рецидива. Подтверждению сказанному могут служить следующие примеры. У Больного Ф., (табл. 2, 1-ая группа сравнения) в момент поступления в клинику по результатам цитологического исследования был диагностирован рецидив. По протоколу был назначен курс интенсивной терапии (КИТ). После проведения курса лечения состояние больного значительно улучшилось. Эффект восстановления функционального состояния клеточной популяции костного мозга можно видеть из табл. 2. Как следует из данных, приведенных в таблице, 68% клеток костного мозга после КИТ перешло из разряда низкодифференцированных (1разряд) в разряд с умеренной степенью дифференцировки (2 разряд) и 15% в разряд высокодифференцированных клеток (3 разряд). При этом в 1 разряде после проведения КИТ осталось всего 16 % клеток, что указывает на высокую результативность проведенного курса терапии.

Таблица 2

**Частота распределение клеток костного мозга по величине. К-фаген в пределах 1-3 разрядов общей гистограммы в группе сравнения до и после проведения курса интенсивной химиотерапии (КИТ)**

Группа сравнения	Объект исследования	Процентное число клеток-3 разрядах в общей группе сравнения в норме до и после проведения КИТ		
		1	2	3
1-ая группа	Норма(донор)	16	50	34
	Б-ной Ф до проведения КИТ	84	15	1
	Б-ной Ф после проведения КИТ	16	68	16
2-ая группа	Норма(донор)	14	70	16
	Б-ной С в момент выписки	52	38	10

Из приведенных данных можно предположить, что в ближайшее время у данного больного рецидива быть не должно, т.к. после проведения КИТ популяция его костного мозга была практически идентична таковой у здорового человека. Различие между популяциями заключается лишь в том, что доля высокодифференцированных клеток у больного Ф. несколько ниже, чем в норме у донора (16% против 34%).

В данном случае сравнительный анализ гистограмм больного и нормы показал, что с одной стороны курс лечения был эффективным, а с другой – предположительно период ремиссии может оказаться длительным. В другом примере больной Х. (табл. 1) в период наших наблюдений в течение 1 года по цитологическим показателям находился в состоянии ремиссии, так как доля бластных клеток в популяции костного мозга больного не превышала 3%. Однако, клинически у больного был обнаружен экстрамедуллярный рецидив (поражение мягких тканей правой верхнечелюстной пазухи – ЭМР). Изменения, связанные с развитием данного заболевания, нашли свое отражение в характере перестройки популяции костного мозга больного.

Как видно из табл. 1, по мере патологического роста опухоли в популяции костного мозга больного Х соответственно увеличивается доля клеток, относящихся к первому разряду общей гистограммы сравнения. При этом изменения в популяции костного мозга направлены в сторону снижения дифференцировки анализируемой популяции, что характерно для картины развития острого лимфобластного лейкоза. (ОЛЛ). Интересно, что при этом доля бластных клеток в популяции остается неизменной. Так же отмечалась тенденция к снижению процентных показателей от 3% до 2%. Это свидетельствует о том, что появление очага патологического роста индуцировало изменение функционального состояния популяции клеток костного мозга больного Х. в сторону злокачественной трансформации без существенного увеличения процента бластных клеток. Данный факт указывает на то, что анализ клеточной популяции костного мозга больного Х. по сдвигу модального класса клеток и количественным изменениям

в последнем является более тонким тестом, чем цитоморфологический метод оценки состояния популяции по процентному содержанию бластных клеток.

Иллюстрацией к сказанному служит следующий пример. Больной С. (табл. 2) в течение длительного времени по клиническим и цитологическим показателям (доля бластных клеток в популяции костного мозга) находился в состоянии ремиссии. На основании этих данных больной был выписан из клиники под наблюдение. Однако по нашим данным это было сделано преждевременно, так как при сравнении гистограмм костного мозга группы сравнения норма (донор) – больной к моменту выписки оказалось, что модальный класс популяции клеток костного мозга больного С. сдвинут влево (в первый ряд) общей гистограммы относительно модального класса клеток в норме (донор), приходящегося на второй разряд общей гистограммы сравнения. Вследствие того, что снижение степени дифференцировки клеток является одним из признаков развития ОЛЛ, можно предположить, что у больного С. возможен рецидив и его выписка была преждевременной. О целесообразности проведения анализа состояния клеточной популяции с учетом модального класса клеток свидетельствует следующий пример (табл. 1, 3-я группа сравнения). Больной Л. в течение почти трех лет находился в ремиссии по всем функциональным и морфологическим показателям. Однако анализ гистограммы общей группы сравнения показал, что, во-первых, имеется статистически достоверное различие по К-фаген между сравниваемыми объектами. Во-вторых, несмотря на то, что изменения модального класса клеток в сравниваемых гистограммах не произошло, доля клеток костного мозга первого разряда (наименее дифференцированные клетки) у больного С. на 31% превышала норму. Это явно повышает вероятность рецидива у больного С. в ближайшее время. Действительно, через 3 месяца у больного на основании цитологического анализа костного мозга был обнаружен рецидив – 6% бластных клеток.

Таким образом, из общего анализа полученных данных можно сделать заключение, что при гемобластозах анализ состояния клеточной популяции по модальному классу функционально активных клеток является более чувствительным методом, чем оценка по проценту бластных клеток в исследуемой популяции, потому что анализ популяции идет по двум рано изменяющимся параметрам: по сдвигу модального класса клеток, т. е. изменению степени дифференцировки определенной группы клеток, а также по изменению (перераспределению) количественного состава клеточных популяций. Оба эти параметра указывают на возможность не только оценки эффективности лечения, но и определенного участия в коррекции проводимой терапии.

#### Литература

1. Бернар, Ж. Проблемы гематологии и переливания крови / Ж. Бернар // 1965, №11. – С. 3-9.
2. Шабалкин, И.П. Вопросы онкологии / И.П. Шабалкин // 1997. – Т. 43, №6. – С. 632-638.
3. Шабалкин, И.П. Цитология / И.П. Шабалкин // 1998. – Т. 40, №1. – С.106-115.
4. Шабалкин, И.П. Динамика функционального состояния клеточных популяций в процессе раннего эмбриогенеза, нормального и опухолевого роста ... дис. д-ра / И.П. Шабалкин. – М., 1998.
5. Шабалкин, И.П. Доклады РАН / И.П. Шабалкин. – 2005. – №4. – С. 553-556.

## **DYNAMICS OF CHANGE OF THE MODAL CLASS POPULATION OF BONE MARROW CELLS IN PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA (ALL) IN STAGE OF REMISSION**

**I.G. Bogush<sup>1</sup>, P.I. Shabalkin<sup>1</sup>  
A.S. Yagubov<sup>1</sup>, T.V. Pavlova<sup>2</sup>**

<sup>1)</sup> *Laboratory of Molecular Biology research methods of the Russian Oncological Scientific Center named by N.N. Blokhin RAMS, Moscow*

<sup>2)</sup> *Belgorod State University*

*e-mail: doc.bogush@mail.ru*

Using the method of cytophotometry it was revealed that for the early assessment of the therapy effectiveness it is advisable to use such quantitative parameters as the coefficient of functional activity of the cell genome (K-Fagen) and modal shift (dominant) in the population class of cells from one category to another.

Key words: bone marrow, acute leukemia.