

наблюдался дефицит нормобиоты, а у 17 пациентов — рост условно-патогенной флоры (дрожжеподобные грибы рода *Candida*, представители родов *Citrobacter*, *Klebsiella* и *Escherichia* (гемолитические *E. coli*)) в изолированном виде или в сочетании с недостатком нормальной микрофлоры. Всем пациентам было рекомендовано лечение в зависимости от вида дисбиоза: элиминация условного патогена с учетом его чувствительности, прием пробиотиков (линекс, лацидофил, бифидумбактерин) и пребиотиков (лактолоза, хилак-форте). Однако при повторном анкетировании выяснилось, что только 12 пациентов соблюдали рекомендации и прошли курс лечения. Мы сравнили клиническую эффективность применения иммуномодуляторов у пациентов, прошедших (12 пациентов) и не прошедших (17 пациентов) курс коррекции кишечного микробиоценоза. Группы не различались по половозрастному признаку и клиническим особенностям ХРГИ. На фоне приема препаратов, влияющих на кишечную микрофлору, эффективность иммунокорректирующей терапии была значимо выше (снизилась частота обострений, $p = 0,02$; уменьшилась их продолжительность, $p = 0,01$; снизилась выраженность симптомов рецидивов, $p = 0,02$). У второй группы пациентов отмечалось только снижение частоты обострений ($p = 0,002$).

Таким образом, проведенное нами исследование продемонстрировало, что при хронической рецидивирующей герпетической инфекции тяжелого течения однократный курс иммунокоррекции дает долгосрочный клинический эффект, выраженность которого существенно за-

висит от особенностей патологического процесса. У пациентов с внегенитальной локализацией инфекции, ациклическим течением заболевания и длительностью анамнеза более трех лет иммунокоррекция ликолипидом и полиоксидонием максимально результативна. Выявление наиболее информативных для прогноза эффективности лечения клинических признаков позволит в перспективе сделать назначение иммуностропных средств более дифференцированным и в целом повысить эффективность иммунокоррекции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Герпетическая инфекция тяжелого течения. / Н. А. Дидковский [и др.] // Терапевтический архив. — 2007. — № 11. — С. 52–57.
2. Еришов, Ф. И. // Российский журнал кожных и венерических болезней. Приложение «Герпес». — 2006. — № 1. — С. 5–11.
3. Шперлинг, Н. В. Клинико-иммунологические особенности и рациональная терапия рецидивирующего генитального герпеса / Н. В. Шперлинг // Российский журнал кожных и венерических болезней. Приложение «Герпес». — 2008. — № 2. — С. 23–26.
4. Aurelian, L. Herpes Simplex Virus Type 2 Vaccines: New Ground for Optimism? / L. Aurelian // Clinical and diagnostic laboratory immunology. — 2004. — Vol. 11. — P. 437–445.
5. Siegel, M. A. Diagnosis and management of recurrent herpes simplex infections / M. A. Siegel // J Am Dent Assoc. — 2002. — Vol. 133, № 9. — P. 1245–1249.
6. Spruance, S. L. Treatment of herpes simplex labialis / S. L. Spruance, J. D. Kriesel // Herpes. — 2002. — Vol. 9, № 3. — P. 64–69.
7. Семенова, Т. Б. Простой герпес / Н. Б. Семенова // Лечащий врач. — 2003. — № 7. — С. 16–21.
8. Шабалин, А. Р. Влияние комплексной терапии на показатели иммунного статуса и клинику урогенитального герпеса / А. Р. Шабалин, Е. А. Шатохина, А. И. Конопля // Вестник дерматологии и венерологии. — 2004. — № 2. — С. 48–50.
9. Взаимосвязь продукции цитокинов в динамике иммунокоррекции эхинацей при обострении герпетической инфекции / О. О. Обухова [и др.] // Медицинская иммунология. — 2008. — Т. 10, № 2–3. — С. 283–290.
10. Мазанкова, Л. Н. Пробиотики и иммунитет / Л. Н. Мазанкова, Т. А. Чеботарева, И. Д. Майкова // Consilium medicum. — 2007. — экстравыпуск. — С. 16–19.

Поступила 02.09.2011

УДК 616-006.446(476.2):575.224.2

МУТАЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ FLT3 И NPM1 В ГРУППЕ ВЗРОСЛЫХ ПАЦИЕНТОВ С МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И ОСТРЫМ НЕЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

А. Е. Силин, Ж. М. Козич, В. К. Шпудейко, И. Б. Тропашко, А. А. Силина,
В. Н. Мартинков, С. М. Мартыненко, А. М. Скрябин, А. В. Воропаева

Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель

Проведен молекулярно-генетический анализ образцов ДНК, выделенных из крови и костного мозга 14 пациентов с МДС РАИБ и 52 пациентов с ОНЛЛ. Не выявлены клинически неблагоприятные мутации гена FLT3 в группе пациентов с МДС РАИБ. Частоты встречаемости мутаций FLT3-ITD, FLT3 D835 и NPM1 в группе пациентов с ОНЛЛ составили $21,2 \pm 5,7$; $5,8 \pm 3,2$ и $23,1 \pm 5,8$ % соответственно. Наиболее насыщенной мутациями FLT3-ITD оказалась подгруппа пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом (M3), а мутациями гена NPM1 — подгруппа с острым миелобластным лейкозом (M1), где в большинстве случаев они встречались совместно с мутацией FLT3-ITD. Показано, что для более чувствительного тестирования необходимо использовать в качестве источника ДНК как образцы крови, так и костного мозга.

Ключевые слова: миелодиспластический синдром, острый нелимфобластный лейкоз, FLT3-ITD, FLT3 D835, NPM1, полимеразная цепная реакция.

MUTATIONAL ANALYSIS OF FLT3 AND NPM1 GENES IN THE GROUP OF ADULT PATIENTS WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME AND ACUTE NON-LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

A. E. Silin, Zh. M. Kozich, V. K. Shpudeyko, I. B. Tropashko, A. A. Silina, V. N. Martinkov, S. M. Martynenko, A. M. Skryabin, A. V. Voropayeva

Republican Research Centre for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel

The molecular-genetic analysis of DNA samples extracted from the blood and marrow of 14 patients with myelodysplastic syndrome (refractory anemia with excess blasts) and 52 patients with acute non-lymphoblastic leukemia has been performed. It did not reveal any clinically unfavourable mutations of FLT3 gene in the group of the patients with myelodysplastic syndrome. The frequency rates for FLT3-ITD, FLT3 D835 and NPM1 mutations in the group of the patients with acute non-lymphoblastic leukemia made up $21,2 \pm 5,7$; $5,8 \pm 3,2$ and $23,1 \pm 5,8$ per cent, correspondingly. The subgroup of the patients with acute promyelocytic leukemia (M3) detected more FLT3-ITD mutations while the subgroup with acute myeloblastic leukemia (M1) had more NPM1 gene mutations (most of the cases in association with FLT3-ITD mutation). It was shown that a more sensitive genetic test required the use of both blood and marrow DNA samples.

Key words: myelodysplastic syndrome, acute non-lymphoblastic leukemia, FLT3-ITD, FLT3 D835, NPM1, polymerase chain reaction.

Введение

В настоящее время одним из наиболее важных факторов прогноза, который отражает биологические особенности острого нелимфобластного лейкоза (ОНЛЛ) и учитывается в большинстве современных программ терапии, является цитогенетическая особенность лейкоэмических клеток. В то же время около половины случаев ОНЛЛ составляют больные с нормальным кариотипом, которые традиционно относятся к подгруппе с промежуточным прогнозом. Проведенные исследования показывают, что фенотипически данная группа является гетерогенной и может быть разделена на прогностически различные подгруппы. В этой связи в последнее время актуальным является изучение нарушений генома с участием генов, мутации которых играют важную роль в патогенезе ОНЛЛ, особенно в группе пациентов без видимых хромосомных aberrаций.

Исследования последних лет позволили выявить ряд молекулярных событий, сопровождающих ОНЛЛ. Среди них особое место принадлежит мутациям генов FLT3 и NPM1 [1–6]. Клинически значимые мутации гена FLT3 представляют собой внутренние tandemные повторы (internal tandem duplication, ITD) длиной от 3 до более чем 400 пар оснований в пределах юкстамембранного домена, а также точковые мутации в киназном домене, среди которых наиболее частой является замена нуклеотидов в 835-м кодоне (D835). По результатам ряда исследований указанные мутации гена FLT3 являются фактором неблагоприятного прогноза [6, 7]. Наиболее частой мутацией NPM1 при ОНЛЛ является дупликация четырех нуклеотидов в 12 экзоне. Наличие мутаций NPM1, как правило, ассоциируется с благоприятным течением ОНЛЛ за исключением случаев ассоциации с мутациями гена FLT3 [4].

Цель работы

Изучение распространенности клинически значимых мутаций генов FLT3 и NPM1 в группах взрослых пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС) и острым нелимфобластным лейкозом (ОНЛЛ) посредством молекулярно-генетического анализа образцов ДНК, выделенных из костного мозга и крови.

Материалы и методы исследования

Группа исследования и пробоподготовка. Сформирована группа исследования из 66 пациентов гематологического отделения для взрослых ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». В нее включены 14 пациентов с миелодиспластическим синдромом (МДС), вариант — рефрактерная анемия с избытком бластов (РАИБ): 8 мужчин (средний возраст 58,3 года) и 6 женщин (средний возраст 59,2 года), а также 52 пациента с различными вариантами ОНЛЛ (M0–M4 по FAB-классификации): 21 мужчина (средний возраст 59,5 года) и 31 женщина (средний возраст 53,0 года). Группа пациентов с ОНЛЛ включает 4 случая острого раннего миелобластного лейкоза (M0), 21 случай острого миелобластного лейкоза (M1), 10 случаев острого миелобластного лейкоза с частичным созреванием (M2), 9 случаев острого промиелоцитарного лейкоза (M3) и 8 случаев острого миеломонобластного лейкоза (M4).

Выделение ДНК из образцов цельной венозной крови осуществлялось посредством набора реагентов «ДНК Сорб-В» (производство ФГУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Выделение ДНК из образцов костного мозга осуществляли с помощью набора Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Методика выявления мутаций генов FLT3 и NPM1. Выявление исследуемых мутаций

осуществлялось посредством полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим электрофоретическим фракционированием продуктов амплификации в агарозном геле.

Для амплификации фрагментов ДНК, в пределах которых локализованы исследуемые мутации, были использованы три пары олигонуклеотидных праймеров (таблица 1).

Таблица 1 — Олигонуклеотидные праймеры для анализа мутаций генов FLT3 и NPM1

Ген	Название праймера	Последовательность нуклеотидов 5'-3'
FLT3	FLT3-14F	GCAATTTAGGTATGAAAGCCAGC
	FLT3-15R	CTTTCAGCATTTTGACGGCAACC
FLT3	D835-F	CCGCCAGGAACGTGCTTG
	D835-R	GCAGCCTCACATTGCCCC
NPM1	NPM-I11f	GTGGTAGAATGAAAAATAGAT
	NPM-E12r	CTTGGCAATAGAACCTGGAC

Для детекции внутренних тандемных повторов (FLT3-ITD) использовались праймеры FLT3-14F и FLT3-15R, мутации D835 — D835-F и D835-R, дупликаций гена NPM1 — NPM-I11f и NPM-E12r.

Смесь реагентов для проведения одной реакции в объеме 25 мкл формировалась следующим образом: 2,5 мкл 10x Hot Start ПЦР буфер (200 мМ Трис-НСl рН 8,3, 200 мМ КСl, 50мМ (NH₄)₂SO₄), 1 мкл 10мМ смеси dNTP, 0,1 мкл каждого 100 мкМ праймера, 3,0 мкл 25мМ MgCl₂, 0,1 мкл Hot Start Taq-полимеразы (5ед./мкл), 1 мкл образца ДНК, вода ПЦР-качества до объема 25 мкл. Обычно для проведения ПЦР более 8 образцов готовили общий раствор (master mix), в который входят все компоненты из расчета на количество исследуемых образцов. Образец ДНК вносится индивидуально в пробирки, содержащие смесь для ПЦР, в последнюю очередь. Для ПЦР использовали специальные пробирки объемом 0,2 мл.

ПЦР осуществляли в амплификаторе с подогреваемой крышкой — GeneAmp 2400 PCR System.

Программа для амплификации фрагмента ДНК в пределах 14–15 экзонов FLT3 (для детекции FLT3-ITD) была составлена следующим образом: начальная денатурация — 5 мин при 95 °С, затем 40 циклов — 30 с денатурация при 95 °С, 30 с отжиг при 52 °С и 30 с элонгация при 72 °С. В завершение — финальная элонгация 8 мин при 72 °С и охлаждение до 4 °С.

Программа для амплификации фрагмента ДНК в пределах 20 экзона FLT3 (для детекции D835) была составлена следующим образом: начальная денатурация — 5 мин при 95 °С, затем 40 циклов — 30 с денатурация при 95 °С, 30 с отжиг при 56 °С и 30 с элонгация при 72 °С. В завершение — финальная элонгация 8 мин при 72 °С и охлаждение до 4 °С.

Амплификацию фрагмента 11 интрона и 12 экзона NPM1 проводили по следующей про-

грамме: начальная денатурация — 5 мин при 95 °С, затем 10 циклов 10-секундной денатурации при 95 °С, отжиг — 10 с при 65 °С и элонгация 30 с при 72 °С при уменьшении температуры отжига на 1 °С в каждом последующем цикле. Следующие 35 циклов — 10 с денатурация при 95 °С, 10 с отжиг при 55 °С и 30 с элонгация при 72 °С. В завершение — финальная элонгация 8 мин при 72 °С и охлаждение до 4 °С.

Мутация в 835 кодоне гена FLT3 приводит к разрушению сайта рестрикции, специфического к ферменту EcoRV. Это дает возможность осуществлять анализ мутации D835 с использованием метода RFLP-PCR. В нашем случае была использована рестриктаза EcoRV производства фирмы «Fermentas» в комплекте с рестрикционным буферным раствором. Для проведения рестрикции 10 мкл продуктов амплификации смешивали с 20 мкл реакционной смеси, содержащей 5 ед. фермента и инкубировали в твердотельном термостате при температуре 37 °С в течение 3 часов.

Визуализация продуктов ПЦР осуществлялась посредством агарозного гель-электрофореза и окраской бромистым этидием в камере SE-2 (Helicon) с источником питания Эльф-4 (ДНК-технология). Гелевым и электродным буфером был 1x TBE раствор рН 8,0 с 0,05 % бромистым этидием. Продукты амплификации объемом 7,5 мкл смешивали с 2,5 мкл загрузочного буфера (70 % водный р-р глицерина и 0,05 % бромфеноловый синий) и вносили в лунки 2,8 % агарозного геля. Электрофорез проводили в течение 30 мин при 200 В. Маркерами молекулярного веса являлись фрагменты ДНК из набора «GeneRuler 50bp DNA Ladder» (Fermentas), масса которых составляла 50–1000 пар нуклеотидов. Примеры электрофоретической детекции мутаций FLT3-ITD представлены на рисунке 1. Для более четкой визуализации использовано инвертированное изображение.

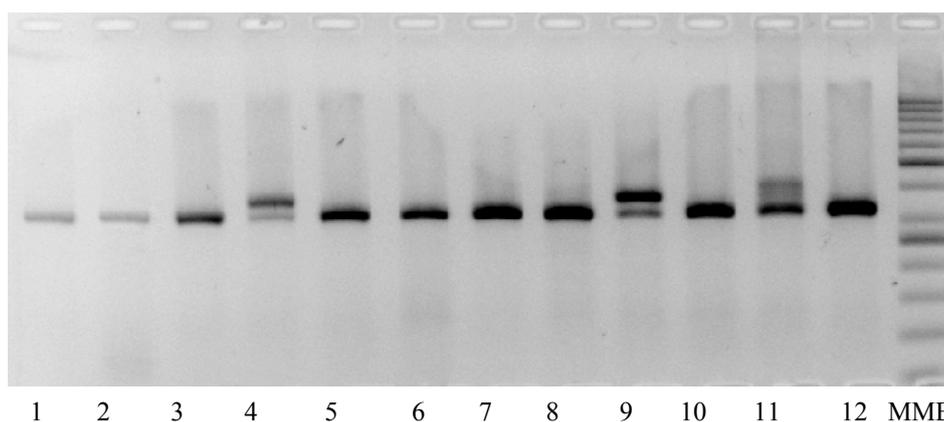


Рисунок 1 — Электрофоретическая детекция мутаций FLT-ITD в 2,8 % агарозном геле. Дорожки 1–3, 5–8, 10 и 12 — образцы с нормальной последовательностью ДНК; дорожки 4, 9 и 11 — образцы с мутацией FLT3-ITD; MMB – маркер молекулярного веса

Результаты и обсуждение

В ходе исследования был осуществлен молекулярно-генетический анализ ДНК, выделенной из цельной венозной крови и костного мозга 66 пациентов. В целом было выявлено 13 случаев мутаций гена NPM1, 11 случаев — FLT-ITD и 3 случая — D835 гена FLT3. Данные проведенного анализа представлены в таблице 2.

В группе пациентов с МДС РАИБ мутации FLT3-ITD и D835 не выявлены. В одном случае как в крови, так и в костном мозге обнаружена мутация гена NPM1 (7,1 ± 6,9 %). Эти данные подтверждают крайне низкую частоту встречаемости мутаций FLT3 при миелодиспластическом синдроме [7, 8].

В группе пациентов с ОНЛЛ выявлены 11 случаев мутаций FLT3-ITD (21,2 ± 5,7 %), 3 случая D835 (5,8 ± 3,2 %) и 12 случаев с мутацией гена NPM1 (23,1 ± 5,8 %). В 7 случаях мутации FLT3-ITD и NPM1 выявлены совместно (13,5 ±

4,7 %). В целом частоты встречаемости изученных мутаций сопоставимы с таковыми, выявленными другими исследователями [5, 9].

Встречаемость мутаций в различных вариантах ОНЛЛ была неравномерной. В подгруппе с M0 ни одной из искомым мутации не выявлено. Однако следует учитывать немногочисленность данной подгруппы, что может повлиять на точность оценки.

В подгруппе пациентов с M1 мутации FLT3-ITD представлены в 19,1 ± 8,6 % случаев. При этом во всех случаях данная мутация присутствовала совместно с мутацией NPM1. Мутация D835 в данной подгруппе отсутствовала. Частота мутаций NPM1 в данной подгруппе оказалась наиболее высокой среди исследуемых подгрупп и составила 33,3 ± 10,3 %. Данный факт подтверждает ранее полученные данные о том, что среди вариантов M0-M4 подгруппа M1 является наиболее насыщенной мутациями NPM1 [4].

Таблица 2 — Данные молекулярно-генетического анализа в группах исследования

№ п/п	ID	Пол	Возраст, лет	Диагноз	ФАВ	Кровь			Кмозг		
						FLT3-ITD	FLT3 D835	NPM1	FLT3-ITD	FLT3D835	NPM1
1	AML003/0	муж.	46	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
2	AML013/0	муж.	65	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
3	AML017/0	муж.	63	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
4	AML019/0	жен.	73	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
5	AML022/0	жен.	26	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
6	AML026/0	муж.	74	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
7	AML028/0	муж.	47	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
8	AML033/0	жен.	42	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
9	AML036/0	муж.	43	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
10	AML044/0	жен.	68	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
11	AML048/0	муж.	69	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
12	AML069/0	жен.	79	МДС	РАИБ	—	—	Да	—	—	—
13	AML074/0	муж.	69	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
14	AML077/0	жен.	67	МДС	РАИБ	—	—	—	—	—	—
15	AML010/0	муж.	39	ОМЛ	M0	—	—	—	—	—	—
16	AML016/0	жен.	30	ОМЛ	M0	—	—	—	—	—	—

Окончание таблицы 1

№ п/п	ID	Пол	Возраст, лет	Диагноз	FAB	Кровь			Кмозг		
						FLT3-ITD	FLT3 D835	NPM1	FLT3-ITD	FLT3D835	NPM1
17	AML025/0	жен.	67	ОМЛ	M0	—	—	—	—	—	—
18	AML032/0	жен.	62	ОМЛ	M0	—	—	—	—	—	—
19	AML004/0	муж.	42	ОМЛ	M1	Да	—	Да	Да	-	Да
20	AML006/0	муж.	48	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
21	AML008/0	жен.	56	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
22	AML030/0	жен.	74	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	Да
23	AML043/0	муж.	59	ОМЛ	M1	—	—	Да	—	—	Да
24	AML045/0	муж.	55	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
25	AML050/0	жен.	46	ОМЛ	M1	Да	—	Да	Да	—	Да
26	AML051/0	жен.	62	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
27	AML052/0	жен.	49	ОМЛ	M1	Да	—	Да	Да	—	Да
28	AML053/0	муж.	48	ОМЛ	M1	Да	—	Да	Да	—	Да
29	AML054/0	муж.	82	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
30	AML055/0	жен.	75	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
31	AML057/0	муж.	75	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
32	AML062/0	жен.	54	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	Да
33	AML064/0	муж.	52	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
34	AML065/0	жен.	67	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
35	AML066/0	муж.	78	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
36	AML070/0	муж.	60	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
37	AML071/0	муж.	74	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
38	AML076/0	муж.	70	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
39	AML078/0	муж.	48	ОМЛ	M1	—	—	—	—	—	—
40	AML001/0	жен.	32	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
41	AML005/0	жен.	55	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
42	AML011/0	жен.	61	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
43	AML015/0	муж.	79	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
44	AML021/0	жен.	46	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
45	AML035/0	жен.	73	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
46	AML060/0	жен.	61	ОМЛ	M2	—	—	Да	—	—	Да
47	AML068/0	жен.	65	ОМЛ	M2	—	—	Да	Да	—	Да
48	AML072/0	жен.	55	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
49	AML075/0	жен.	57	ОМЛ	M2	—	—	—	—	—	—
50	AML012/0	жен.	54	ОМЛ	M3	—	—	—	—	—	—
51	AML031/0	жен.	24	ОМЛ	M3	Да	—	—	—	—	—
52	AML038/0	жен.	42	ОМЛ	M3	Да	—	Да	Да	—	Да
53	AML040/0	жен.	40	ОМЛ	M3	—	—	—	—	—	—
54	AML042/0	жен.	72	ОМЛ	M3	—	—	—	—	—	—
55	AML046/0	жен.	46	ОМЛ	M3	Да	—	—	Да	Да	—
56	AML056/0	муж.	53	ОМЛ	M3	—	—	—	—	—	—
57	AML059/0	жен.	40	ОМЛ	M3	Да	—	—	Да	—	—
58	AML073/0	муж.	18	ОМЛ	M3	Да	—	—	Да	Да	—
59	AML007/0	жен.	71	ОМЛ	M4	Да	—	Да	Да	—	—
60	AML009/0	муж.	49	ОМЛ	M4	—	—	—	—	—	—
61	AML027/0	муж.	72	ОМЛ	M4	—	—	—	—	—	—
62	AML029/0	муж.	61	ОМЛ	M4	—	Да	—	—	—	—
63	AML041/0	жен.	21	ОМЛ	M4	—	—	—	—	—	—
64	AML049/0	жен.	34	ОМЛ	M4	—	—	—	—	—	—
65	AML058/0	жен.	51	ОМЛ	M4	—	—	Да	—	—	Да
66	AML063/0	муж.	63	ОМЛ	M4	—	—	—	—	—	—

В подгруппе с M2 мутация FLT3-ITD представлена в одном случае ($10 \pm 9,5 \%$), NPM1 — в 2 случаях ($20 \pm 12,6 \%$). При этом в одном случае обе мутации выявлены совместно. Мутация D835 в данной подгруппе отсутствовала.

Подгруппа пациентов с M3 оказалась наиболее насыщенной мутациями FLT3-ITD — $55,6 \pm 16,6 \%$. Выявленное нами преобладание данного типа мутации в группе пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом хорошо согласуется с

данными других исследований, в соответствии с которыми FLT3-ITD преимущественно встречается в группах пациентов с М3, а также М1 [2, 6]. В данной подгруппе по одному случаю ($11,1 \pm 10,5\%$) были представлены мутации NPM1 (совместно с FLT3-ITD) и D835 (совместно с FLT3-ITD).

По одному случаю ($12,5 \pm 11,7\%$) в подгруппе пациентов с М4 выявлены мутации FLT3-ITD и D835, в 2 случаях ($25 \pm 15,3\%$) — NPM1 (в одном случае совместно с FLT3-ITD).

В подавляющем большинстве тестов мутации выявлялись как в костном мозге, так и в крови (таблица 1). В то же время наблюдались случаи, когда положительными тесты были только в какой-либо одной из тканей. Например, мутация FLT3-ITD у пациентки AML068/0 при неоднократном тестировании выявлялась только в костном мозге. Сходная ситуация наблюдалась и для мутаций NPM1 (AML030/0 и AML062/0) и D835 (AML073/0 и AML046/0). В редких случаях наблюдалось присутствие мутаций только в крови пациентов (AML007/0 и AML029/0). Эти данные свидетельствуют в пользу необходимости использования в качестве материала для молекулярно-генетического анализа мутаций генов FLT3 и NPM1 как костного мозга, так и цельной венозной крови.

Выводы

В результате проведенного исследования установлено:

1. Отсутствие клинически неблагоприятных мутаций гена FLT3 в группе пациентов с МДС РАИБ.

2. Частоты встречаемости мутаций FLT3-ITD, FLT3 D835 и NPM1 в группе пациентов с ОНЛЛ составили $21,2 \pm 5,7$, $5,8 \pm 3,2$ и $23,1 \pm 5,8\%$ соответственно.

3. Наиболее насыщенной мутациями FLT3-ITD оказалась подгруппа пациентов с острым промиелоцитарным лейкозом (М3), а мутациями гена NPM1 — подгруппа с острым миелобластным лейкозом (М1), где в большинстве случаев они встречались совместно с мутацией FLT3-ITD.

4. Для более чувствительного тестирования необходимо использовать в качестве источника ДНК как образцы крови, так и костного мозга.

Данная работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Фундаментальная и прикладная медицина и фармация», подпрограмма «Фундаментальная и прикладная медицина», раздел 2 «Изучение патогенетических основ социально-значимых заболеваний человека для разработки методов их диагностики, лечения и профилактики» (договор № 1.2.26 от 28.02.2011 г.).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. FMS-like tyrosine kinase (FLT3) gene ITD mutation in acute myeloid leukemia / R. Kusec [et al.] // Zdrav Vestn. — 2004. — № 73. — P. 5–7.
2. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease: Presented in part at the 42nd annual meeting of the American Society of Hematology, December 1–5, 2000, San Francisco, CA (abstract 3569) / S. Schnittger [et al.] // Blood. — 2002. — Vol. 100, № 1. — P. 59–66.
3. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies / Y. Yamamoto [et al.] // Blood. — 2001. — Vol. 97, № 8. — P. 2434–2439.
4. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance / R. G. W. Verhaak [et al.] // Blood. — 2005. — Vol. 106, № 12. — P. 3747–3754.
5. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML) / C. Thiede [et al.] // Blood. — 2001. — Vol. 107, № 10. — P. 4011–4020.
6. Бавыкин, А. С. FLT3-тирозинкиназа при острых нелимфобластных лейкозах / А. С. Бавыкин, М. А. Волкова // Онкогематология. — 2006. — № 1–2. — С. 15–24.
7. Prognostic significance of FLT3 ITD and D835 mutations in AML patients / M. H. Sheikhha [et al.] // The Hematology Journal. — 2003. — № 4. — P. 41–46.
8. FLT3 and NPM1 Mutations in Myelodysplastic Syndromes: Frequency and Potential Value for Predicting Progression to Acute Myeloid Leukemia / A. Bains [et al.] // American Journal of Clinical Pathology. — 2011. — Vol. 135, № 1. — P. 62–69.
9. Fms Like Tyrosine Kinase (FLT3) and Nucleophosmin 1 (NPM1) Mutations in De Novo Normal Karyotype Acute Myeloid Leukemia (AML) / N. R. Dunna [et al.] // Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. — 2010. — Vol. 11. — P. 1811–1816.

Поступила 03.10.2011

616.89 – 008.441.13 – 036.66 – 036.87

КОПИНГ-СТРАТЕГИИ У ЛИЦ С АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТЬЮ В РЕМИССИИ И В РЕЦИДИВООПАСНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

И. М. Сквиря

Гомельский государственный медицинский университет

В статье представлены результаты исследования копинг-стратегий у лиц с алкогольной зависимостью в ремиссии. Установлено, что в процессе формирования компенсированной ремиссии у пациентов с алкогольной зависимостью использование непродуктивных копинг-стратегий уменьшалось, а продуктивных — увеличивалось, при возникновении же рецидивоопасных клинических состояний ремиссионного периода наоборот: использование продуктивных стратегий уменьшалось ($p < 0,01$), а непродуктивных увеличивалось. Установленные закономерности можно использовать в программах терапии и реабилитации пациентов с алкогольной зависимостью.

Ключевые слова: алкогольная зависимость, ремиссия, рецидивоопасные клинические состояния, копинг-стратегии.