

Полученные данные позволяют заключить, что частота нахождения родственного гистосовместимого донора связана с особенностями распределения некоторых параметров системы HLA у больных и их сибсов.

Учитывая, что одной из поставленных це-

лей проводимых исследований являлось определение возможностей поиска неродственного донора ГСМК для трансплантации, целесообразно было сравнить распределение HLA-антигенов белорусской популяции доноров с жителями других стран (таблица 2).

Таблица 2 — Сравнительные данные частоты HLA генов среди жителей г. Минска и других популяций

Антиген	г. Минск	г. Москва	г. Санкт-Петербург	Западная Европа	Польша
A1	0,1369	0,1403	0,1042	0,1580	0,1398
A2	0,2789	0,2986	0,3059	0,2700	0,2720
A3	0,1544	0,1288	0,1454	0,1260	0,1282
A9	0,1112	0,1242	0,1482	0,1036	0,1365
A25	0,0646	0,0635	0,0304	0,0204	0,0408
A26	0,0487	0,0476	0,0646	0,0395	0,0356
A11	0,0726	0,0529	0,0852	0,0506	0,0890
Aw19	0,0972	0,1013	0,0660	0,1499	0,0963
A28	0,0228	0,0258	0,0410	0,0439	0,0305
Ax	0,0127	0,0140	0,0006	0,0221	0,0112
B5	0,0646	0,0726	0,1148	0,0589	0,0824
B7	0,1254	0,1340	0,1489	0,1040	0,0890
B8	0,0540	0,0840	0,0775	0,0917	0,0673
B12	0,1056	0,0689	0,1042	0,1660	0,1000
B13	0,0566	0,0450	0,0339	0,0319	0,0566
B14	0,0228	0,0424	0,0373	0,0240	0,0305
B15	0,0619	0,0673	0,0605	0,0485	0,0513
B16	0,0593	0,0286	0,0301	0,0532	0,0764
B17	0,0461	0,0398	0,0386	0,0573	0,0566
B18	0,0945	0,0434	0,0541	0,0620	0,0356
B21	0,0126	0,0228	0,0179	0,0218	0,0303
Bw22	0,0305	0,0151	0,0233	0,0364	0,0566
B27	0,0434	0,0356	0,0510	0,0463	0,0566
B35	0,0835	0,0945	0,0635	0,0986	0,1112
B37	0,0177	—	0,0077	0,0112	—
B40	0,0673	0,0673	0,0622	0,0811	0,0513
B41	0,0202	0,0228	0,0282	—	0,0101
Bx	0,0340	0,1159	0,0532	0,0356	0,0282

Анализ представленных данных показал, что во всех рассматриваемых популяциях имеет место одинаковое значение частот HLA генов. Следовательно, при поиске потенциальных доноров СКК для неродственных трансплантаций реально существует возможность их нахождения не только в регистре данных Республики Беларусь, но и в аналогичных регистрах других стран. При этом предпочтение при интеграции следует отдавать странам с западнославянской популяцией населения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Зарецкая, Ю. М. HLA 50 лет / Ю. М. Зарецкая, Ю. А. Леднев. — Тверь, 2008. — 152 с.
2. Миланович, Н. Ф. Трансплантация гемопоэтических клеток в Республике Беларусь / Н. Ф. Миланович // Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины: тр. Всерос. науч.-практ. конф., посвящ. 50-летию Кировского НИИ гематологии и переливания крови. — Минск, 2010. — С. 254–256.
3. Трансплантация аллогенных и аутологичных гемопоэтических стволовых клеток при острых лейкозах (итоги 20-летнего опыта) / В. Г. Савченко [и др.] // Терапевтический архив. — 2007. — Т. 79, № 7. — С. 30–35.
4. Bone marrow donor's worldwide annual report 2008. — Leiden, 2009.
5. Bone marrow donor's worldwide annual report 2009 — Leiden, 2010.

УДК 616.155.392-003.24-036.11-053.2+615.324

АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК С ФЕНОТИПОМ CD34+CD38- И CD34+CD38-CD19+ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ЛЕЙКЕМИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ОСТРОМ ЛИМФОБЛАСТНОМ ЛЕЙКОЗЕ У ДЕТЕЙ

Л. В. Мовчан, Т. В. Шман

Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, г. Минск

Методом многопараметрической проточной цитофлуориметрии определяли количество предполагаемых лейкоэмических стволовых клеток (ЛСК) в образцах костного мозга 54 пациентов с первичным В-линейным острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) на момент диагностики лейкоза (0-й день), уровень минимальной ос-

таточной болезни (МОБ) определяли на 0-й и 15-й дни индукционной терапии. В ходе работы было выявлено, что среди клеток с фенотипом CD34+CD38- преобладали лейкоэмические предшественники В-клеток с фенотипом CD34+CD38-CD19+. Большое процентное содержание как CD34+CD38-, так и CD34+CD38-CD19+ среди общей популяции лейкоэмических клеток ассоциировалось с худшим ответом на терапию. Поэтому исходное количество таких клеток может рассматриваться как прогностический маркер при ОЛЛ у детей.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, минимальная остаточная болезнь.

ANALYSIS OF THE NUMBER OF CELLS WITH CD34+CD38- AND CD34+CD38-CD19+ PHENOTYPES AS POTENTIAL LEUKEMIC STEM CELLS IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IN CHILDREN

L. V. Movchan, T. V. Shman

Republican Research Center for Pediatric Oncology and Hematology, Minsk

The number of the supposed leukemic stem cells in marrow samples of 54 patients with primary B-linear acute lymphoblastic leukemia was detected by the method of multiparametric flow cytofluorimetry in leukemia diagnosis (zero day). The level of minimal residual disease was estimated on zero and on the fifteenth days of induction therapy. In the course of the research it was found out that leukemic B-cell precursors with CD34+CD38-CD19+ phenotype prevailed among the cells with CD34+CD38-phenotype. The high percentage of both CD34+CD38-, CD34+CD38-, and CD34+CD38-CD19+ among the general population leukemic cells was associated with a worse response to the therapy. Therefore, the initial number of such cells can be considered as a prognostic marker in acute lymphoblastic leukemia in children.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, minimal residual disease, flow cytofluometry, leukemic stem cells.

Введение

Актуальной проблемой в онкологии является выявление и характеристика свойств стволовых опухолевых клеток, которые инициируют и поддерживают рост опухоли, а также способствуют прогрессии заболевания. В середине 90-х гг. XX в. были получены первые экспериментальные данные о существовании особой популяции клеток при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ) с иммунофенотипом CD34+CD38-, которая способна инициировать лейкоз в иммунодефицитных мышцах [7]. Клетки с такими свойствами называют лейкоз инициирующими или лейкоэмическими стволовыми клетками (ЛСК) [2]. В случае с острым ОЛЛ нет единого мнения о фенотипе ЛСК. Есть данные указывающие, что клетки с фенотипом CD19-CD133+ [4], CD34+CD38+ CD19+ и CD34+CD38-CD19+ [6], CD34+CD19-, CD34+CD19+, так и CD34-CD19+ [8] обладают свойствами ЛСК. При этом выявлено, что количество клеток с фенотипом CD34+CD38- при диагностике лейкоза ассоциируется с неблагоприятным прогнозом при ОМЛ у детей [10], а также прямо коррелирует с количеством остаточных лейкоэмических клеток при терапии ОЛЛ у детей [5].

Цель исследования

Исследование количества клеток с иммунофенотипом CD34+CD38- и CD34+CD38-CD19+ в качестве потенциальных ЛСК, а также оценка взаимосвязи между их содержанием и ранним ответом на терапию при В-линейном ОЛЛ у детей.

Материалы и методы исследования

В исследование были включены 54 пациента с первичным В-линейным ОЛЛ. Среди них лейкозные клетки 4-х пациентов имели иммунофенотип Pro-B, common B — 47 пациентов, Pre-B — 3 пациента. Все пациенты проходили лечение по протоколу МБ-2008 в ГУ «РНПЦДОГ».

Определение количества предполагаемых ЛСК проводили в образцах костного мозга пациентов на момент диагностики лейкоза (0-й день), уровень МОБ анализировали на 0-й и 15-й дни терапии методом четырехцветной проточной цитофлуориметрии. Использовали моноклональные антитела, конъюгированные с FITC, PE, PE-Cy5, PE-Cy7 в различных комбинациях. Для определения содержания предполагаемых ЛСК использовали комбинацию антител CD45/CD38/CD34/CD19. Для анализа МОБ использовали следующие комбинации антител — CD45/CD20/CD10/CD19; CD45/CD34/CD10/CD19; CD45/CD38/CD10/CD19; CD45/CD11a/CD10/CD19; CD45/CD58/CD10/CD19 и методику, описанную ранее [1]. Учет и анализ результатов проводили на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter) в программе СХР. Учитывали не менее 500 тыс. клеток.

Статистический анализ проводили в программе «Statistica» 6.0. Результаты представлены в виде значений медианы и диапазона данных (25–75 перцентили). Достоверность различий между независимыми группами рассчитывали с помощью U-теста Манна-Уитни. Корреляционные зависимости оценивали по тесту Спирмана.

Результаты исследования и их обсуждение

Для 54 пациентов на момент диагностики ОЛЛ проанализировали количество лейкомиических

клеток с возможными лейкоз-иницирующими свойствами. На рисунке 1 представлен пример такого анализа.

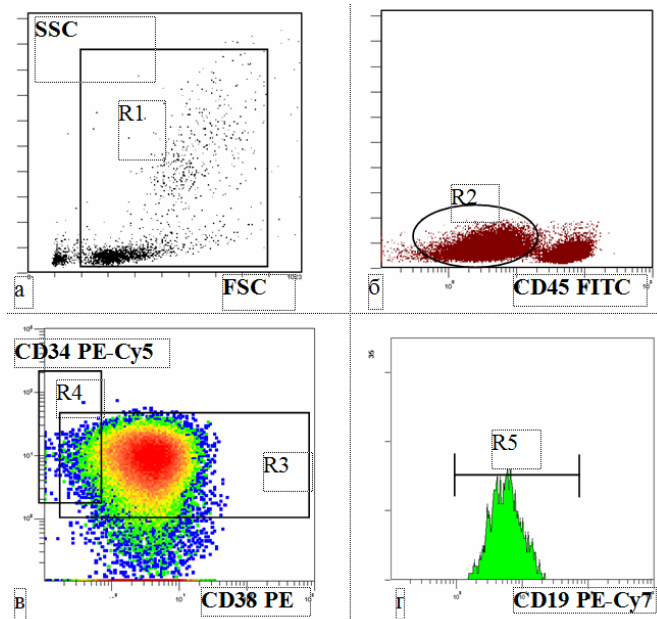


Рисунок 1 — Пример количественного анализа клеток предполагаемых ЛСК:
а — распределение клеток по светорассеиванию; **б —** распределение клеток по экспрессии CD45;
в — распределение клеток по экспрессии CD38 и CD34;
г — гистограмма распределения клеток по экспрессии CD19

Клетки с фенотипом CD34+CD38-CD19+ наиболее часто рассматривают в качестве потенциальных ЛСК при В-линейном ОЛЛ [9]. Для анализа их количества живые клетки выделяли по показателям прямого (FSC) и бокового (SSC) светорассеивания (а, регион R1), затем по сниженной экспрессии CD45 определяли регион бластных клеток (б, R2), далее среди бластных клеток рассчитывали количество CD34+ (в, регион R3), а также процент наименее дифференцированных CD34+CD38-клеток (в, регион R4). Так, как среди CD34+CD38-клеток могут быть представлены нормальные гемопоэтические предшественники, поэтому далее дополнительно рассчитывали количество CD34+CD38-клеток, экспрессирующих CD19 (г, регион R5).

Среди бластных клеток для всех проанализированных случаев медиана количества CD34+ клеток составила 61 (7,9–95,2) %, CD34+CD38-клеток — 1,6 (0,3–10,8) %, CD34+CD38-CD19+ клеток — 1,4 (0,1–10,6) %. Таким образом, наблюдали прямую корреляцию между содержанием CD34+CD38-CD19+клеток и количеством CD34+ (R = 0,5 при p < 0,0001) и количеством CD34+CD38-клеток (R = 0,98 при p < 0,0001).

Так как уровень МОБ является наиболее важным прогностическим фактором при ОЛЛ [3], поэтому мы проанализировали связь между количеством предполагаемых ЛСК и уровнем МОБ на 15-й день терапии. Для этого пациентов разделили на группы согласно уровню МОБ на четыре группы. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 — Количество предполагаемых лейкомиических стволовых клеток в группах пациентов с различным уровнем минимальной остаточной болезни на 15-й день терапии

Уровень МОБ, %	N	Количество клеток, % (27–75 перцентили)		
		CD34+	CD34+CD38-	CD34+CD38-CD19+
1 >1	15	77,3 (57,3–93,5)	4,7 (1,9–20,9) *3,4	3,5 (1,7–20,6)*3,4
2 0,1–1,0	17	72,9 (16,0–95,2)	5,1 (0,5–24,7)*4	4,7 (0,2–24,4)*4
3 0,01–0,09	8	27,6 (2,5–94,8)	0,4 (0,1–1,0)	0,3 (0,06–0,8)
4 < 0,01	11	22,4 (1,1–96,6)	0,7 (0,005–1,1)	0,1 (0,004–1,1)

Примечание: * p < 0,05

Согласно представленным данным видно, что большее процентное содержание предпола-

гаемых ЛСК с иммунофенотипом CD34+CD38-CD19+, так и CD34+CD38- было выявлено в

группах пациентов с худшим ответом на терапию (уровень МОБ > 0,1 %) по сравнению с группами пациентов с меньшими значениями МОБ (< 0,1 %). При этом достоверных различий в содержании CD34+ клеток между исследуемыми группами не выявлено.

Таким образом, при первичном В-линейном ОЛЛ у детей среди клеток с фенотипом CD34+CD38- преобладали лейкоэмические предшественники В-клеток с фенотипом CD34+CD38-CD19+. Большое процентное содержание как CD34+CD38-, так и CD34+CD38-CD19+ среди общей популяции лейкоэмических клеток ассоциировалось с худшим ответом на терапию. Поэтому исходное количество таких клеток может рассматриваться как прогностический маркер при ОЛЛ у детей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Определение остаточных опухолевых клеток в костном мозге детей с В-линейным острым лимфобластным лейкозом методом проточной цитофлуориметрии / М. В. Белевцев [и др.] // Клини. лаб. диагностика. — 2006. — № 10. — С. 42–46.
2. Becker, M. W. Leukemia stem cells in 2010: current understanding and future directions / M. W. Becker, C. T. Jordan // *Blood Rev.* — 2011. — Vol. 25(2). — P. 75–81.
3. Campana, D. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia / D. Campana // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* — 2010. — P. 7–12.
4. Expression of CD133 on leukemia-initiating cells in childhood ALL / C. V. Cox [et al.] // *Blood.* — 2009. — Vol. 113(14). — P. 3287–3296.
5. High frequency of immature cells at diagnosis predicts high minimal residual disease level in childhood acute lymphoblastic leukemia / M. Ebinger [et al.] // *Leuk. Res.* — 2010. — Vol. 34(9). — P. 1139–1142.
6. CD34+CD38+CD19+ as well as CD34+CD38-CD19+ cells are leukemia-initiating cells with self-renewal capacity in human B-precursor ALL / Y. Kong [et al.] // *Leukemia.* — 2008. — Vol. 22, № 6. — P. 1207–1213.
7. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice / T. Lapidot [et al.] // *Nature.* — 1994. — Vol. 367. — P. 645–648.
8. In childhood acute lymphoblastic leukemia, blasts at different stages of immunophenotypic maturation have stem cell properties / C. le Visneur [et al.] // *Cancer Cell.* — 2008. — Vol. 14(1). — P. 47–58.
9. Flow minimal residual disease monitoring of candidate leukemic stem cells defined by the immunophenotype, CD34+CD38lowCD19+ in B-lineage childhood acute lymphoblastic leukemia / K. Wilson [et al.] // *Haematologica.* — 2010. — Vol. 95(4). — P. 679–683.
10. High proportion of leukemic stem cells at diagnosis is correlated with unfavorable prognosis in childhood acute myeloid leukemia / K. E. Witte [et al.] // *Pediatr. Hematol. Oncol.* — 2011. — Vol. 28(2). — P. 91–99.

УДК 616.155.392-003.24-036.12-08

АЛЕМТУЗУМАБ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ЛИМФОЛЕЙКОЗОМ

О. М. Морозова

9-я городская клиническая больница, г. Минск

В статье освещены результаты международных клинических исследований по использованию алемтузумаба у пациентов с хроническим лимфолейкозом, приведены результаты собственного применения алемтузумаба как в монотерапии, так и в сочетании с химиопрепаратами (флударабином, циклофосфаном). Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение алемтузумаба у больных с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) является эффективным современным методом терапии.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, моноклональные антитела, алемтузумаб.

ALEMTUZUMAB IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHATIC LEUKEMIA

O. M. Morozova

Municipal Clinical Hospital № 9, Minsk

The article elucidates the results of the international clinical research into the application of alemtuzumab in patients with chronic lymphatic leukemia (CLL) and presents the results of the application of alemtuzumab both in monotherapy and in the combination with chemotherapeutics (fludarabine, cyclophosphamide). The received results testify that the application of alemtuzumab in CLL patients is an effective up-to-date method of therapy.

Key words: chronic lymphatic leukemia, homogenous antibodies, alemtuzumab.

Введение

Алемтузумаб — это противоопухолевое средство, представляющее собой генно-инженерные гуманизированные IgG1 каппа моноклональные антитела, специфически связывающиеся с гликопротеином CD52, который экспрессируется на поверхности нормальных и малигнизированных В- и Т-лимфоцитов крови и не экспрессируется на гемопоэтических стволовых клетках [1].

В 2001 г. алемтузумаб был зарегистрирован в США и странах ЕС для лечения рецидивов у больных с ХЛЛ, получавших лечение алкилирующими препаратами и аналогами пуринов. Keating и соавт. [2] изучали эффективность и безопасность монотерапии алемтузумабом у больных ХЛЛ с резистентностью к флударабину. У 93 больных с доказанной резистентностью к флударабину медиана выживаемости