

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(18)

2017 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований по медицинской и биологической отраслям науки (31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован
Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 28.09.17.
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 200 экз.
Усл. печ. л. 17,09. Уч.-изд. л. 10,1.
Зак. 187.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины и
экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в КУП
«Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беяковский
(д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент),
В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь),
С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент),
А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макарчик (к.м.н., доцент),
С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Э.А. Надыров (к.м.н., доцент),
И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент),
Э.А. Повелица (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская
(к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров
(д.б.н., профессор), А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент)

Редакционный совет

В.И. Жарко (зам. премьер-министра Республика Беларусь, Минск),
А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), С.С. Алексанин
(д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Д.А. Базыка (д.м.н., профессор,
Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва), Е.Л. Богдан
(Начальник Главного управления организации медицинской помощи
Министерство здравоохранения), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик
РАН и РАМН, Москва), А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва),
И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва), М.П. Захарченко
(д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Л.А. Ильин (д.м.н., академик
РАМН, Москва), К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов
(д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н., Минск),
Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Минск),
В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), Ф.И. Тодуа
(д.м.н., академик НАН Грузии, Тбилиси), Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор,
Киев), В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н.,
Минск), В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2017

№ 2(18)

2017

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Обзоры и проблемные статьи

В.Я. Латышева, А.Е. Филюстин, В. И. Курман, Н.А. Гурко, А.С. Барбарович

Дисцит: клиника, диагностика, лечение 6

Е.В. Макаренко

Ревматическая полимиалгия 16

С.П. Соловей

Атеросклероз, кальциноз сосудов, остеопороз: патогенетические, молекулярные и клинические корреляции 26

Медико-биологические проблемы

В.С. Аверин, А.Н. Батян, К.Н. Бuzдалкин, В.Б. Масыкин, Е.В. Копыльцова, Е.К. Нилова, Э.Н. Цуранков

Радиационно-гигиеническое обследование некоторых населённых пунктов, по данным каталога доз-2015 средняя годовая доза облучения жителей которых может превысить 1 мЗв/год 37

А.В. Воропаева, А.Е. Силин, С.М. Мартыненко, И.Н. Козарь, В.Н. Мартинков, А.А. Силина, И.Б. Тропашко

Возможности стандартного цитогенетического исследования и полимеразной цепной реакции в диагностике хронического миелолейкоза и острого лимфобластного лейкоза 44

Л.А. Горбач

Риск возникновения туберкулеза органов дыхания у лиц в возрасте до 19 лет, проживающих в наиболее пострадавших от чернобыльской катастрофы районах 49

Е.В. Николаенко, С.И.Сычик

Обоснование защитных мероприятий при запроектных радиационных авариях на АЭС 56

И.Н. Коляда, О.В. Позднякова

Динамика состояния здоровья населения Гомельской области, пострадавшего вследствие катастрофы на ЧАЭС 63

Reviews and problem articles

V.Ya. Latysheva, A.E. Philustin, V.I. Kurman, N.A. Gurko, A.C. Barbarovich

Discitis: clinical picture, diagnostics, treatment

E.V. Makarenko

Polymyalgia rheumatica

S.P. Salavei

Atherosclerosis, vascular calcification, osteoporosis: pathogenetic, molecular and clinical correlations

Medical-biological problems

V.S. Averin, A.N. Batyan, K.N. Buzdalkin, V.B. Masyakin, E.V. Kopyltsova, E.K. Nilova, E.N. Tsurankov

Radiation-hygienic examination of some populated items, according to dos-2015 date-medium, the average annual dose of irradiation of residents that may be exceeded 1 msv/year

A.V. Voropaeva, A.E. Silin, S.M. Martynenko, I.N. Kozar, V.N. Martinkov, A.A. Silina, I.B. Tropashko

The capabilities of standard cytogenetic analysis and polymerase chain reaction in diagnosis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia

L.A. Gorbach

The risk of pulmonary tuberculosis in persons under 19 years residing in the most affected by the Chernobyl accident areas

A. Nikalayenka, S. Sychik

Substantiation of protection measures in beyond design accident on NPP

I.N. Kolyada, O.V. Pozdnyakova

Health status dynamics of Gomel region population affected by the Chernobyl accident

А.А. Чешик, И.В. Веялкин, А.В. Рожко
Особенности заболеваемости гемобластозами у населения Республики Беларусь, эвакуированного из зоны отчуждения в 1986 г.

69

Клиническая медицина

Т.В. Алейникова

Анализ геометрических паттернов левого желудочка и турбулентности сердечного ритма у пациентов с артериальной гипертензией II степени с учетом возрастных и гендерных различий

76

А.В. Бойко, В.В. Пономарев, Т.В. Хомиченко, И.И. Михневич

Влияние нейровоспаления на когнитивные нарушения при болезни Паркинсона

83

А.А. Дмитриенко, В.В. Аничкин, Ю.И. Ярец, Н.И. Шевченко, М.Ф. Курек, А.Я. Маканин, В.И. Сильвестрович

Антибактериальная терапия при гнойных осложнениях диабетической остеоартропатии Шарко

89

И.С. Карпова, О.А. Суджаева, О.В. Кошлатая
Спекл-трекинг эхокардиография у постинфарктных пациентов с различной тяжестью хронической коронарной недостаточности

99

А.Ю. Крылов, О.Г. Суконко

Первично-множественные опухоли при тройном негативном раке молочной железы в Гродненской области в 2011-2015 гг.

105

А.Н. Михайлов, А.Е. Филюстин, И.Г. Савастеева

Сравнительная характеристика изменений поясничных позвонков по данным остеоденситометрии и двухэнергетической компьютерной томографии у пациентов с дегенеративными изменениями позвоночника

110

A.A. Cheshik, I.V. Veyalkin, A.V. Razhko
Incidence of malignant neoplasms of blood and lymphatic system in Belorussian evacuees

Clinical medicine

T.V. Aleynikova

Analysis of the geometric patterns of the left ventricle and heart rate turbulence in patients with arterial hypertension II degree taking into account age and gender differences

A.V. Boika, V.V. Ponomarev, T.V. Homichenko, I.I. Mikhnevich

Influence of neuroinflammation on cognitive impairment in Parkinson's disease

A.A. Dmitrienko, V.V. Anichkin, Y.I. Yarets, N.I. Shevchenko, M.F. Kurek, A.Y. Makanin, V.I. Silvestrovich

Antibacterial therapy for purulent complications of diabetic osteoarthropathy Charcot

I.S. Karpova, O.A. Sujayeva, O.V. Koshlataya
Speckle tracking echocardiography in patients with previous myocardial infarction with varying severity chronic coronary insufficiency

A.Yu. Krylov, O.G. Sukonko

Primary-multiple tumors with triple negative breast cancer in the Grodno region in 2011-2015

A. Mikhailov, A. Philustin, I. Savasteeva

Comparative characteristics of changes in lumbar vertebrae from osteodensitometry and dual-energy computed tomography within the patients with degenerative spine changes

В.В. Похожай, А.В. Величко, З.А. Дундаров, С.Л. Зыблев

Диагностические критерии уровня паратиреоидного гормона в смыве с пункционной иглы при биопсии паращитовидных желез в норме и патологии 116

О.А. Суджаева, О.В. Кошлатая, Т.В. Ильина, И.С. Карпова, А.А. Вавилова

Особенности неинвазивной оценки функционального состояния системы кровообращения у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца после чрескожных коронарных вмешательств 122

Н.Н. Усова, А.Н.Цуканов, Л.А. Лемешков

Уровень тиреоидных гормонов при острых и хронических нарушениях мозгового кровообращения 128

Обмен опытом

В.В. Масляков, Б.П. Кудрявцев, В.Г. Барсуков, К.Г. Куркин, А.В. Усков

Пути совершенствования медицинской помощи раненым с огнестрельными ранениями в условиях локального военного конфликта 134

V.V. Pokhozhay, A.V. Velichko, Z.A. Dundarov, S.L. Zyblev

Diagnostics criteria of parathyroid hormone level in the flushing from puncture needle at biopsy of parathyroid gland at normal and pathologic state

V.A. Sujayeva, O.V. Koshlatja, T.V. Ilyina, I.S. Karpova, A.A. Vavilova

Peculiarities of non-invasive assessment of a functional condition of the blood circulatory system in patients with chronic coronary heart disease after percutaneous coronary interventions

N.N. Usova, A.N.Tsukanov, L.A. Lemeshkov

Level of thyroid hormones in acute and chronic disorders of cerebral circulation

Experience exchange

V.V. Masljakov, B.P. Kudrjavcev, V.G. Barsukov, K.G. Kurkin, A.V. Uskov

Ways of improvement of medical care to the wounded with gunshot wounds in the conditions of the local military conflict

**ВОЗМОЖНОСТИ СТАНДАРТНОГО ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ И ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ
В ДИАГНОСТИКЕ ХРОНИЧЕСКОГО МИЕЛОЛЕЙКОЗА
И ОСТРОГО ЛИМФОБЛАСТНОГО ЛЕЙКОЗА**

ГУ «РНПЦ радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Беларусь

Современный уровень диагностики гемобластозов предполагает использование комплекса различных лабораторных методов исследования. В статье представлены сравнительная характеристика и собственные результаты стандартного цитогенетического исследования и ПЦР-диагностики хронического миелолейкоза и острого лимфобластного лейкоза. Описываются характерные особенности перечисленных методов исследования и перспективы их использования для установления диагноза и контроля ремиссии.

Ключевые слова: хронический миелолейкоз, острый лимфобластный лейкоз, цитогенетическое исследование, транслокация, полимеразная цепная реакция, BCR-ABL

Введение

Филадельфийская хромосома (цитогенетически Ph-хромосома) является специфическим маркером хронического миелолейкоза (ХМЛ) и возникает в результате реципрокной транслокации t(9;22)(q34;q11). Точки разрыва располагаются в генах ABL хромосомы 9 и BCR хромосомы 22, в результате чего образуется слитный (химерный) ген BCR/ABL [1]. Выделяют несколько типов транслокации в зависимости от расположения точек разрыва на хромосоме 22. Когда точка разрыва находится в главной зоне M-bcr (major breakpoint cluster region) гена BCR, образуется слитный онкоген BCR-ABL, кодирующий белок p210 с молекулярной массой 210 kDa, и хромосомная перестройка по типу b3a2 или b2a2. Если точка разрыва происходит в минорной зоне m-bcr гена BCR (хромосомная перестройка типа e1a2), образуется ген, кодирующий белок p190 или p230 [2]. Ph-хромосома обнаруживается в 95% случаев ХМЛ, в 20% случаев острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у взрослых, в 2% случаев острого миелобластного лейкоза (ОМЛ), а также в 5% случаев ОЛЛ у детей.

Варианты хромосомной транслокации по типу b3a2 и b2a2 встречаются при ХМЛ, ОМЛ и ОЛЛ, вариант хромосомной транслокации по типу e1a2 характерен для ОЛЛ, но в редких случаях (2-3%) встречается при ХМЛ и ОМЛ.

В 5% случаев ХМЛ встречается так называемый «вариант Филадельфии» (Phvar), который образуется в результате сложной генетической перестройки с участием 9, 22 и дополнительных хромосом, при этом экспрессируется химерный онкоген BCR/ABL, который может быть выявлен только методами молекулярно-биологического анализа [3].

Стандартное цитогенетическое исследование (СЦИ) клеток костного мозга и периферической крови пациентов с ХМЛ не всегда может выявить Ph-хромосому (у 5% пациентов с ХМЛ и 10-15% пациентов с острыми лейкозами). Чувствительность данного метода (1Ph-позитивная клетка на 1000 нормальных) недостаточна, особенно после проведения химиотерапии или трансплантации костного мозга, сопровождаемых редукцией лейкозного Ph-позитивного клона. Также при микроскопическом исследовании невозможно диф-

ференцировать варианты транслокации, что важно в отношении прогноза клинического ответа на применяемые при лечении препараты. Тем не менее, только СЦИ позволяет проанализировать весь хромосомный набор клетки и обнаружить дополнительные хромосомные aberrации [4].

Первым высокочувствительным методом молекулярной диагностики ХМЛ был метод блот-гибридизации по Саузерну с использованием 2-х зондов (клонированных специфических последовательностей, комплементарных определенным участкам гена BCR области M-bcr): 5'-зонд содержал экзон b1 области M-bcr с последовательностями примыкающих к этому экзону интронов, а 3'-зонд – большую часть третьего интрона M-bcr, что позволило разделить варианты геномных точек разрыва в области M-bcr на 2 типа: «5'» – точка разрыва между экзонами b2 и b3 и «3'» – точка разрыва между экзонами b3 и b4 или b4 и b5 [5].

С началом использования в молекулярной диагностике ХМЛ метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) стало возможным определение типа экспрессии химерного гена BCR/ABL с отнесением к основным вариантам – b2a2 и b3a2, e1a2 или редко встречающимся транскрипционным вариантам – e1a3, b2a3, b3a3, e6a2, e19a2 [6]. Применяемый в настоящее время метод обратнo-транскриптазной ПЦР (ОТ-ПЦР) и ПЦР в реальном времени (ПЦР РВ) позволяет выявить разные варианты хромосомной транслокации t(9;22) с чувствительностью 1 лейкозная клетка на 100 тысяч нормальных клеток, при этом метод достаточно прост и воспроизводим. Несомненным достоинством данного метода является возможность количественной оценки экспрессии химерного гена BCR/ABL, т.е. определения опухолевой нагрузки при ХМЛ, необходимой для оценки эффективности лечения и мониторинга минимальной остаточной болезни. При проведении ПЦР РВ используют праймеры или зонды с флуоресцентными метками. Уровни флуоресцентного сигнала, получаемые в ходе реакции, позволяют рассчитать ко-

личество копий химерного и контрольного гена в пробе. Отклонения, обусловленные разным исходным количеством РНК в каждой реакции и различиями в эффективности реакции обратной транскрипции, компенсируются соотношением полученных значений с результатами определения экспрессии контрольного гена. Кроме того, по количеству копий контрольного гена можно судить о качестве исходного генетического материала и отсеивать образцы с низким содержанием РНК, т.е. контролировать основные этапы анализа (забор, транспортирование, хранение, выделение РНК, проведение реакции обратной транскрипции РНК и непосредственно амплификации кДНК) [7].

Цель исследования: оценить возможности стандартного цитогенетического исследования и ПЦР при выявлении Ph-хромосомы и гена BCR/ABL.

Материал и методы исследования

Всего в исследование включены 439 пациентов, проходивших лечение в гематологическом отделении для взрослых, гематологическом отделении для детей, либо явившихся на консультативный поликлинический прием в ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» в 2014-2017 гг. Из указанных пациентов 319 были взрослыми пациентами (медиана возраста 52,8 лет) с ХМЛ или другими хроническими миелопролиферативными заболеваниями. Группу пациентов с ОЛЛ составили 92 пациента, из них 40 взрослых пациентов (медиана возраста 26,7 лет) и 52 ребенка (медиана возраста 9,3 лет). Кроме того, в анализ включены 28 пациентов с ХМЛ (медиана возраста 55,0 лет), получавших лечение иматинибом.

Для всех пациентов были выполнены стандартное цитогенетическое и молекулярно-биологическое исследование методом ПЦР.

Материалом для СЦИ являлся аспират костного мозга, взятый в специальную вакуумную систему типа «Vacuett®» содержащую гепарин натрия. Сразу после забора образцы транспортировали в лаборато-

рию. Из образцов костного мозга центрифугированием или отстаиванием выделяли лейкоциты, суспендировали в среде для выращивания (РПМИ 1640) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки и культивировали в термостате при 37°C от 24 до 48 часов. Для накопления клеток в стадии метафазы за 1-2 часа до окончания культивирования в культуру клеток добавляли коллехин (0,3-0,5 мкг/кг), получали осадок клеток, обрабатывали его нагретым до 37°C 0,075 М раствором хлорида калия (KCl), помещали в термостат при 37°C на 8-12 минут и фиксировали поэтапно полученные клетки в смеси метанол – уксусная кислота 3:1. Клеточную взвесь наносили на предметные стекла для окрашивания G-методом и проводили кариотипирование в соответствии с Международной системой цитогенетической номенклатуры человека (ISCN 2016г.), анализируя не менее 15-20 метафаз.

Материалом для проведения ПЦР являлся аспират костного мозга, взятый в специальную вакуумную систему типа «Vacuett®», содержащую EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота).

Проведение СЦИ и ПЦР предъявляет определенные требования к количеству забираемого биологического материала: 10-15 мл венозной крови или 2-3 мл костного мозга.

Выделение РНК из лейкоконцентрата проводили методом фенол – хлороформной экстракции набором реагентов «РИБО-золь-D» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ) в соответствии с протоколом. Для проведения реакции обратной транскрипции и получения к-ДНК на матрице РНК использовали набор реагентов «РЕВЕРТА-Л» (ФБУНЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ).

Одностадийную мультиплексную ПЦР выполняли с использованием двух пар праймеров (ОДО «Праймтех», г. Минск, РБ): BCR-C – 5'-ACCGCATGTTCCGG-GACAAAAG-3', B2B – 5'-ACAGaATTCTGACCATCAATAAG-3', C5e – 5'-ATAGGATCSTTTGCAACCGGGTCTGAA-3',

CA3 – 5'-TGTTGACTGGCGTGATGTAGT TGCTTGG-3'.

Реакционная смесь состояла из 2,5-кратного ПЦР-буфера (ксиленцианол, 7,5 mM MgCl₂, Tag-полимераза), смеси нуклеотидов дНТФ 10 mM, смеси BCR-ABL праймеров (10 μM каждого) и деионизованной воды. Объем реакционной смеси составлял 25 мкл, количество к-ДНК – 5 мкл. Амплификацию проводили в амплификаторе Palm Cycler фирмы Corbett Research (Австралия). Программа амплификации была представлена следующим температурным режимом: 1 цикл – 95°C в течение 3 минут; 35 циклов – 95°C в течение 60 секунд; 55°C в течение 50 секунд; 72°C в течение 60 секунд; и конечной элонгации 72°C в течение 5 минут. Далее 10 мкл полученного ПЦР-продукта были проанализированы посредством электрофореза в 1,7% агарозном геле в трис-ЭДТА-боратном (ТВЕ) буфере с окраской бромидом этидия. Для визуализации и анализа полученных результатов использовали видеосистему фирмы GelDoc XR с программой Quanti One фирмы Bio-Rad. В качестве контроля использовали маркер молекулярного веса GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder и к-ДНК известных позитивных пациентов с ОЛЛ и ХМЛ и вариантами e1a2 и b2a2 соответственно. Детектируемый ПЦР-продукт t(9;22) с вариантом e1a2 имел размер 481bp, b3a2 – 385bp, b2a2- 310 bp и внутренний контроль гена BCR – 808 bp.

ПЦР РВ проводили с использованием набора реагентов АмплиСенс® Лейкоз Квант M-bcr-FRT» (ФБУНЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ) с двумя смесями олигонуклеотидов: амплификация участка мРНК химерного гена M-bcr-abl (p210), соответствующего участку сшивки генов bcr и abl (b2a2 и b3a2) и фрагмента мРНК области сплайсинга гена abl в качестве эндогенного внутреннего контроля и гена-нормализатора. Результат амплификации кДНК bcr-abl и кДНК abl регистрировали по каналу флуоресценции HEX, учет результатов детекции проводили согласно прилагаемой инструкции к набору реагентов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1. Критическим значением уровня значимости считали $p=0,05$.

Результаты исследования

Транслокация $t(9;22)$ с экспрессией белка p210 BCR/ABL методом ОТ-ПЦР выявлена у 89 из 319 (27,9%) взрослых пациентов с ХМЛ, причем у 76 пациентов (85%) присутствовал транскрипт b3a2 и у 13 пациентов (15%) транскрипт b2a2. СЦИ показало присутствие Ph-хромосомы у 91 пациента (28,5%) при отрицательном результате качественной ОТ-ПЦР. В подгруппе из 40 взрослых пациентов с ОЛЛ отмечены два случая выявления $t(9;22)$ с экспрессией белка p190 BCR/ABL по типу e1a2 (5,0%) как посредством ОТ-ПЦР, так и методом СЦИ, среди 52 обследуемых детей $t(9;22)$ не обнаружена.

При сопоставлении результатов определения Ph-хромосомы и выявления гена BCR/ABL установлено совпадение результатов у 409 пациентов из 411 (99,5%), различия между методами по частоте выявления изменений были статистически не значимы, уровень значимости для критерия Мак-Немара $p=0,480$.

В группе из 28 пациентов с ХМЛ, получавших лечение иматинибом, совпадение результатов СЦИ и ПЦР РВ зарегистрировано у 17 пациентов (60,7%). ПЦР РВ показала присутствие мРНК химерного гена M-bcr-abl (p210) у 9 пациентов при отрицательном результате СЦИ, различия статистически значимы, $p=0,004$ для критерия Мак-Немара.

СЦИ, ОТ-ПЦР и ПЦР РВ востребованы на этапах диагностики ХМЛ. Выполнение цитогенетического анализа может быть затруднено в случае получения малого количества метафаз при использовании периферической крови и изменений в костном мозге при миелофиброзе. Тем не менее только СЦИ позволяет анализировать весь хромосомный набор клетки и определять дополнительные цитогенетические

нарушения, числовые aberrации и аномалии, отличные от распространенных типов транслокаций.

Проведение ПЦР позволяет одновременно идентифицировать транскрипты p190 и p210 BCR/ABL. Используя метод Nested PCR (последовательное использование внешнего и внутреннего праймеров) или реамплификацию с продуктом первой реакции амплификации в качестве ДНК-мишени и теми же праймерами, можно повысить чувствительность реакции до одной Ph-позитивной клетки на 100 тысяч нормальных [8].

ПЦР РВ применима при определении экспрессии химерного гена BCR/ABL во время постановки диагноза и, особенно, во время лечения и обследования больных ХМЛ в полной ремиссии, когда резидуальное количество лейкемических клеток ниже уровня чувствительности СЦИ. Проведение анализа методом ПЦР РВ позволяет стандартизировать лабораторное исследование, соответственно сравнивать и унифицировать схемы лечения ХМЛ с применением ингибиторов тирозинкиназ во всем мире. При помощи ПЦР РВ и набора реагентов АмплиСенс® Лейкоз Квант M-bcr-FRT» (ФБУНЦНИИЭ Роспотребнадзора, РФ) количество транскрипта гена bcr-abl можно оценить как абсолютно, установив количество к-ДНК в анализируемом образце, так и по отношению к уровню экспрессии контрольного гена ABL. Аналитическая чувствительность набора составляет 24 копии мРНК на экстракцию при определении варианта мРНК b2a2 и 48 копий мРНК на экстракцию при определении варианта мРНК b3a2.

Выводы: Установлена необходимость совместного применения цитогенетического анализа и полимеразной цепной реакции для первичной диагностики и контроля ремиссии при хроническом миелолейкозе и остром лимфобластном лейкозе как взаимодополняющих методов.

Библиографический список:

1. Rowley J. D. The minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia / J.D. Rowley // Science. – 1960. – Vol. 132. – P. 1497.

2. Savona M. Getting to the stem of chronic myeloid leukaemia / M. Savona, M. Talpaz // *Nat. Rev. Cancer.* – 2008. – Vol. 8. – P. 341-350.
3. Melo J. The molecular biology of chronic myeloid leukaemia / J. Melo // *Leukemia.* – 1996. – Vol. 10. – P. 751-758.
4. Chronic myeloid leukemia: an update of concepts and management recommendations of European Leukemia / M. Baccarani [et al.] // *Net. J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27 – P. 6041-6051.
5. Fused transcript of abl and bcr genes in chronic myelogenous leukemia / E. Shtivelman [et al.] // *Nature.* – 1985. – Vol. 315. – P. 550-554.
6. New breakpoints of t(9;22) translocation in chronic myeloid leukemia / A. Misyurin [et al.] // *Bioorg. Khim.* – 1999. – Vol. 25, № 3. – P. 234-236.
7. Раннее выявление цитогенетического рецидива при динамическом исследовании уровня BCR-ABL-транскрипта у больного хроническим миелолейкозом / Е. Чельшева [и др.] // *Гематол. и трансфузиол.* – 2007. – №2. – С. 50-51.
8. Куцев, С.И. Молекулярно-генетический мониторинг терапии хронического миелолейкоза ингибиторами тирозинкиназ / С.И. Куцев, М.В. Вельченко, А.Н. Зельцер // *Онкогематол.* – 2008. – № 4. – С. 17-25.

A.V. Voropaeva, A.E. Silin, S.M. Martynenko, I.N. Kozar, V.N. Martinkov, A.A. Silina, I.B. Tropashko

**THE CAPABILITIES OF STANDARD CYTOGENETIC ANALYSIS AND
POLYMERASE CHAIN REACTION IN DIAGNOSIS OF CHRONIC
MYELOID LEUKEMIA AND ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**

The modern diagnostic level of myeloid neoplasms involves the use of a complex of various laboratory methods of analysis. The article presents the comparative characteristics and own results of a standard cytogenetic research and polymerase chain reaction in the diagnosis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia. There are described the characteristic features of the listed research methods and the prospects of their use for establishing the diagnosis and control of remission.

Key words: *chronic myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, cytogenetic research, translocation, polymerase chain reaction, BCR-ABL*

Поступила: 20.09.17