

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 2(20)

2018 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 28.09.18
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 200 экз.
Усл. печ. л. 16,5. Уч.-изд. л. 9,13.
Зак. 69.

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. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Вейкин (к.б.н., доцент),
А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), В.В. Евсеенко (к.пс.н.),
С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент), А.Н. Лызикив (д.м.н., профессор), А.В. Макавич (к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор),
Я.Л. Навменова (к.м.н.), Э.А. Надзыров (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.П. Саливончик (к.б.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), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

Редакционный совет

В.И. Жарко (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 МЗ РБ, Минск), 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., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск), Д.Л. Пиневиц (Первый заместитель министра здравоохранения РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), 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», 2018

№ 2(20)

2018

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

Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин, В.М. Семенов

Роль микроРНК одноклеточных типа *Apicomplexa* в системе паразит-хозяин (обзор литературы)

6

Медико-биологические проблемы

И.В. Веялкин, С.Н. Никонович, А.А. Чешик, А.В. Рожко

Заболеваемость злокачественными новообразованиями детей, рожденных в семьях родителей, облученных вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС, в Республике Беларусь

17

Н.Г. Власова

Оценка средней годовой эффективной дозы внешнего облучения жителей населенных пунктов Республики Беларусь для зонирования территории

25

Ж.А. Гладкова, Н.Е. Алейникова, Т.Е. Кузнецова, А.В.Бойко, В.В.Пономарев, А.М. Устемчук, Д.Б. Нижегородова

Ротеноновые модели синдрома паркинсонизма *in vivo*.

31

Е.Ф. Мицура, Л.И. Волкова

Наследственный сфероцитоз в структуре гемолитических анемий у детей и его клиническое течение в Республике Беларусь

39

А.Е. Силин, Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, В.В. Кошкевич, А.В. Воропаева, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, С.М. Мартыненко

Молекулярно-генетическая диагностика Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний

45

Р.К. Спиров, А.Н. Никитин

Конверсионные дозовые коэффициенты трансураниевых элементов для растений зоны отчуждения Чернобыльской АЭС

52

Reviews and problem articles

E.S. Pashinskaya, V.V. Pabiarzhyn, V.M. Semenov

The role of single-celled Apicomplexa microRNAs to the parasite-host system

Medical-biological problems

I.V. Veyalkin, S.N. Nikonovich, A.A. Cheshik, A.V. Rozhko

The cancer incidence in children born of parents affected by Chernobyl disaster in the Republic of Belarus

N.G. Vlasova

Assessment of the average annual effective external exposure doses of the settlements of the Republic of Belarus for territory zoning

Z.A. Hladkova, N.Y. Aleinikava, T.Y. Kuznetsova, A.V. Boika, V.V. Ponomarev, A.M. Ustiamchuk, D.B. Nizheharodava

Rotenon models of parkinsonism syndrome *in vivo*

E.F. Mitsura, L.I. Volkova

Hereditary spherocytosis in the structure of hemolytic anemia in children and its clinical course in the Republic of Belarus

A.Silin, D. Novik, V. Martinkov, V. Koshkevich, A. Voropaeva, A. Silina, I. Tropashko, S. Martynenko

Molecular genetic testing of Ph-negative chronic myeloproliferative diseases

R.K. Spirov, A.N. Nikitin

Conversion dose coefficients of transuranium elements for plants in the exclusion zone of the Chernobyl NPP

Клиническая медицина**Clinical medicine**

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

Клинико-экономическое обоснование использования новых алгоритмов диагностики и хирургического лечения пациентов с первичным гиперпаратиреозом 58

**С.В. Зыблева, С.Л. Зыблев, О.П. Логинова, М.Г. Шитикова, А.В. Величко, Б.О. Кабешев, Д.Л. Дугин, Е.М. Бредихин, Е.А. Сви-
стунова**

Диагностикум для оценки иммунологической реактивности при трансплантации почки 66

А.Г. Карапетян

Оценка функционального состояния дыхательной системы у армянских ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС 72

Ф.Л. Кутарев, С.А. Игумнов

Особенности социального функционирования лиц, злоупотребляющих алкоголем 78

А.Б. Малков

Доклиническая диагностика дистальной диабетической полинейропатии нижних конечностей 84

Л.П. Мамчиц

Территориально-временная характеристика заболеваемости туберкулезом населения Гомельской области в пост-чернобыльский период 92

О.В. Пархоменко, Э.А. Повелица, В.А. Доманцевич, В.Н. Подгайский, А.М. Шестерня

Артериальный тромбоз эпигастрико-пенильного анастомоза после реконструктивных операций при артериогенной эректильной дисфункции 99

А.С. Подгорная, А.Ю. Захарко, Н.Н. Шибяева, А.И. Козлова, Л.П. Коршунова, А.В. Марченко, О.В. Мурашко

Тамоксифен-индуцированная патология эндометрия 105

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

Clinical and economic substantiation of the use of new algorithms of diagnostics and surgical treatment of patients with primary hyperparathyroidism

S. Zybleva, S. Zyblev, O. Loginova, M. Shytikova, A. Velichko, B. Kabeshev, D. Dugin, E. Bredyhin, A. Svistunova

Diagnosticum for assessment of immunological reactivity at kidney allotransplantation

A.G. Karapetyan

Evaluation of the respiratory system functional state in the Armenian liquidators of Chernobyl NPP accident

F. L. Kutarev, S.A. Igumnov

Peculiarities of social functioning of the alcohol abusers

A. Malkov

Preclinical diagnostics of distal diabetic polyneuropathy of lower extremities

L.P. Mamchits

Territorial-time characteristics of the incidence of tuberculosis Gomel region population in the post-chernobyl period

O.V. Parhomenko, E.A. Povelitsa, V.A. Domantsevich, V.N. Podgaysky, A.M. Shesternya

Arterial thrombosis of epigastric-penile anastomosis after reconstructive operations with arteriogenic erectile dysfunction

A. Podgornaya, A. Zakharko, N. Shybaeva, A. Kozlova, L. Korshunova, A. Marchenko, O. Murashko

Tamoxifen-induced endometrial pathology

**Н.Н. Усова, А.Н. Цуканов, А.П. Савостин,
М.Л. Струк**

Терапевтические возможности Тио-
колхикозида при болях в спине

112

**N.N. Usova, A.N. Tsukanov, A.P. Savostin,
M.L. Struk**

Therapeutic possibilities of Thiocolchico-
side for back pain

Обмен опытом

Experience exchange

О.К. Доронина, Э.Н. Дейлидко

Основные методы диагностики храни-
ческого эндометрита у женщин с бес-
плодием

118

O. Doronina, E. Dailidka

The main methods of diagnostics of
chronic endometritis in women with in-
fertility

**С.А. Цуканова, А.В. Жарикова, А.Н. Цука-
нов, О.В. Кобылко**

Мультифокальная моторная невропа-
тия: клинический случай из практики

123

**S.A. Tsukanova, A.V. Zharikova, A.N. Tsu-
kanov, O.V. Kobylko**

Multifocal motor neuropathy: clinical
case from practice

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА Ph-НЕГАТИВНЫХ ХРОНИЧЕСКИХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

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

В результате проведенного исследования показано, что использование основных маркеров клональной миелопролиферации в виде соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL позволяет проводить молекулярную диагностику истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии и первичного миелофиброза в 93,4%, 78,1% и 84,7% случаях соответственно.

Наиболее значимой для диагностики Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний является мутаций V617F гена JAK2. Применение для диагностики дополнительных маркеров в виде мутаций генов CALR и MPL позволяют верифицировать диагнозы «Эссенциальная тромбоцитемия» и «Первичный миелофиброз» для 44,1% и 55,6% JAK2-негативных пациентов соответственно.

Положительный мутационный статус связан с повышением значений лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов и уровнем гемоглобина, значимо меньшим уровнем ЛДГ, а также повышенной частотой спленомегалии в группе пациентов с первичным миелофиброзом.

Ключевые слова: хронические миелопролиферативные заболевания, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, идиопатический миелофиброз, JAK2, CALR, MPL, полимеразная цепная реакция

Введение

Хронические миелопролиферативные заболевания (ХМПЗ) включают в себя восемь нозологических форм, из которых отдельно рассматривается хронический миелолейкоз (ХМЛ), маркером которого является химерный ген BCR-ABL1 (филадельфийская хромосома Ph) [1]. Из BCR-ABL1-негативных ХМПЗ «классическими» считают три заболевания: истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ). Их отличают от «неклассических» ХМПЗ: хронический нейтрофильный лейкоз, хронический эозинофильный лейкоз, мастоцитоз и ХМПЗ неклассифицируемые [2].

ИП диагностируется при повышенном уровне гемоглобина и эритроцитов, увеличении гематокрита, нейтрофильном лейкоцитозе, базофилии и тромбоцитозе, уменьшении СОЭ, низком или нормальном значении эритропоэтина сыворотки [3].

ЭТ характеризуется клональной пролиферацией, в первую очередь мегакариоцитарного ростка кроветворения, и в меньшей степени, гранулоцитарного, эритроидного ростков миелопоэза. Для ЭТ свойственно возрастание числа крупных и гигантских мегакариоцитов в костном мозге и устойчивый тромбоцитоз в периферической крови, с чем связано развитие тромбозов и кровотечений [1, 3].

ПМФ отличается клональной миелоидной пролиферацией, повышенной секрецией ростовых факторов, развитием фиброза в костном мозге, появлением очагов экстрамедуллярного гемопоэза и, как следствие, гепатоспленомегалией [3].

Ранее диагностика Ph-негативных ХМПЗ осуществлялась на основе комплексного клинико-лабораторного анализа, включающего общий анализ крови с определением гематокрита, определение уровня эритропоэтина, гистологическое

исследование костного мозга, цитогенетическое исследование, других лабораторных тестов, использовались также инструментальные исследования.

В то же время в ряде случаев используемые методы не позволяли однозначно дифференцировать реактивные состояния от клональной миелопролиферации. Это было связано с отсутствием надежных маркеров, позволяющих однозначно выявлять клональный характер заболевания.

Молекулярный патогенез Ph-негативных ХМПЗ долгое время оставался неизвестен. С учетом способности к эритропоэтин-независимому росту эритроидных колоний, характерной для 98-100% пациентов с ИП, было высказано предположение о повышенной тирозин-киназной активности в эритроидных предшественниках [3, 4].

В 2005 году была впервые описана ассоциация мутации V617F гена JAK2 с ХМПЗ, в том числе ИП, ЭТ и ПМФ [4, 5, 6]. Клональная и рекуррентная мутация, приводящая к замене аминокислоты валина на фенилаланин в JH2 псевдокиназном домене гена Янус-киназы 2 (JAK2), была определена у большинства (> 80%) больных ИП [7].

Помимо мутации гена JAK2 у больных с ХМПЗ выявляют мутации и в других генах. Идентифицированы молекулярные нарушения в 10 экзоне гена MPL (мутации W515L и W515K), кодирующего рецептор тромбопоэтина. Тромбопоэтин, главный гуморальный регулятор тромбопоэза в организме человека, участвует в патогенезе миелофиброза [8].

В последние годы показана ассоциация диагноза ЭТ и ПМФ с наличием соматических мутаций со сдвигом рамки считывания в 9 экзоне гена кальретикулина (CALR) [9]. Первые сообщения о высокой частоте соматических мутаций гена кальретикулина (CALR) в образцах пациентов с миелопролиферативными новообразованиями (МПН) были опубликованы в конце 2013 года двумя коллективами авторов: Klampfl et al., 2013 [10] и Nangalia et al., 2013 [11].

В последней редакции ВОЗ все вышеперечисленные маркеры рекомендованы для тестирования в качестве больших критериев диагностики ХМПЗ.

Цель данного исследования – дать оценку диагностической значимости соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL и провести анализ их связи с клиническими и лабораторными параметрами в группах пациентов с истинной полицитемией, эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом.

Материал и методы исследования

Группа исследования сформирована из числа пациентов, проходивших курс лечения в гематологическом отделении для взрослых ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ». Образцы материала для исследования отбирались только после получения письменного информированного согласия на исследование по утвержденной форме до проведения курса соответствующего лечения. По каждому пациенту осуществлялся сбор общей и клинической информации. В исследование были включены 298 пациентов с медианой возраста 61 (53-70) год. Группы исследования состояли из 106 пациентов (35,6%) с диагнозом «Истинная полицитемия» (ИП) с медианой возраста 62,5 (54-71) года, 87 пациентов (29,2%) с диагнозом «Эссенциальная тромбоцитемия» (ЭТ) – 61 (48-68) год и 105 пациентов (35,2%) с диагнозом «Первичный миелофиброз» (ПМФ) – 61 (54-72) год.

Материалом для исследования являлись образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови посредством набора «Нуклеосорб»-В (Праймтех) в соответствии с прилагаемой инструкцией по применению.

Молекулярно-генетический анализ проводили избирательным тестированием мутации V617F гена JAK2, мутаций W515L и W515K гена MPL и наиболее частых мутаций гена CALR – 52-bp делеция (del, тип 1) и 5-bp инсерция (ins, тип 2).

Для тестирования был применен оригинальный метод мультиплексной полиме-

разной цепной реакции (ПЦР) с последующей детекцией в агарозном геле. Данный метод позволяет выявлять все типы мутаций в результате проведения одной ПЦР. Для ПЦР использовали аллельспецифические праймеры для выявления мутаций JAK2 и MPL и два праймера, фланкирующих 9 экзон гена CALR.

Электрофоретическая детекция продуктов амплификации осуществлялась в 1,7% агарозном геле с окраской бромистым этидием. Примеры электрофоретической детекции приведены на рисунке 1.

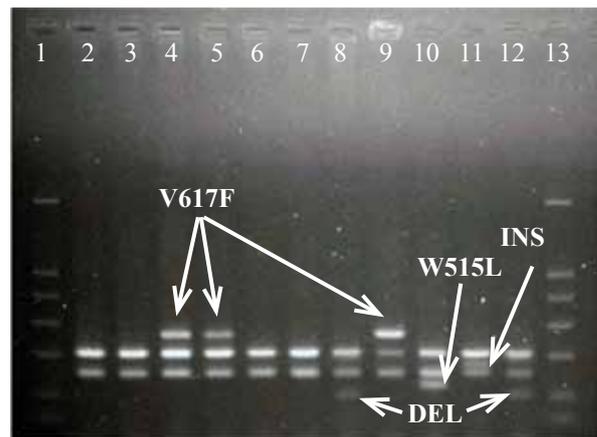
Факты выявленных мутаций подтверждены прямым секвенированием посредством генетического анализатора AB 3500. Секвенирующую реакцию осуществляли как с прямым, так и с обратным праймером с использованием реагентов из набора для секвенирования ABI PRISM BigDye Terminator v 3.1 Ready Reaction Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems Int.) в соответствии с прилагаемой инструкцией.

Результаты исследований

Пол и возраст. В результате проведенного анализа не выявлено существенных различий в возрасте пациентов на момент диагноза между группами ИП и ЭТ ($p=0,082$), ИП и ПМФ ($p=0,728$) и ЭТ и ПМФ ($p=0,092$).

Среди всех исследованных пациентов преобладали женщины, их было в 1,6 раза больше – 61,1%, в сравнении с пациентами мужского пола – 38,9% (отличие от ожидаемого соотношения по полу 1:1 статистически значимо $p<0,001$).

При анализе распределения пациентов по полу в группах исследования установлено, что доля женщин была наибольшей в группе ЭТ – 75,9%, где она в 3,1 раза превышала долю мужчин – 24,1% (отличие от ожидаемого соотношения по полу 1:1 статистически значимо $p<0,001$). Доля женщин в группах ИП и ПМФ была близкой – 54,7% и 59,5%, отличия были незначимыми как между группами ($p=1,000$), так и от ожидаемого соотношения по полу 1:1 ($p=0,277$ и $p=0,287$ соответственно).



Дорожки 4, 5, 9 – образцы с мутацией V617F гена JAK2, дорожки 8, 12 – образцы, содержащие мутацию del гена CALR, дорожка 11 – образец с мутацией ins гена CALR, дорожка 10 – образец с мутацией W515L гена MPL, дорожка 1 и 13 – маркер молекулярного веса

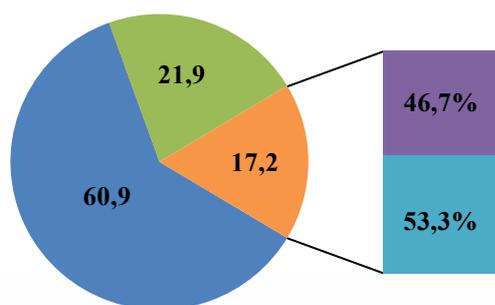
Рисунок 1 – Электрофоретическая детекция

Статистически значимыми были различия в доле женщин между группами ЭТ и ИП ($p=0,003$) и ЭТ и ИМ ($p=0,004$).

Истинная полицитемия. В группе ИП выявлялся только один тип исследуемых мутаций – V617F JAK2. Данная мутация присутствовала у 99 пациентов из 106 (93,4%). У мужчин она встречалась с частотой 89,6% (43/48), а у женщин – 96,6% (56/58), различия в частотах между полами незначимы, $p=0,240$. Отличия в возрасте между носителями мутации JAK2 V617F (медиана 63 года) и пациентами без таковой (медиана 51 год) в данной группе были также незначимыми, $p=0,053$. Однако частота мутаций JAK2 среди пациентов старше 50 лет составила 95,7% (88/102) и была статистически значимо больше, чем среди пациентов в возрасте 50 и менее лет – 78,6% (11/14), $p=0,047$.

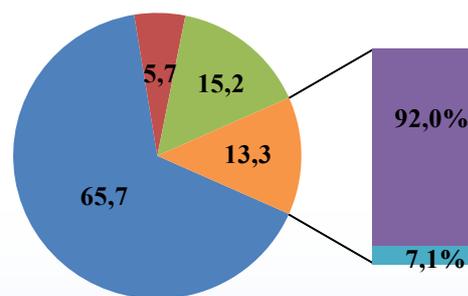
Каких-либо различий между группами JAK+ и JAK- по клиническим, лабораторным параметрам или данным инструментальных исследований нами не выявлено.

Эссенциальная тромбоцитемия. У пациентов из группы ЭТ, в отличие от группы ИП, были выявлены мутации двух генов – V617F JAK2 и оба типа мутаций гена CALR – del и ins, которые присутствовали в группе приблизительно в равных долях (рисунок 2).



■ Jak ■ Негатив ■ Calr Del ■ Calr Ins

Рисунок 2 – Распространенность мутаций в группе пациентов с эссенциальной тромбоцитемией



■ Jak ■ MPL ■ Негатив ■ Calr Del ■ Calr Ins

Рисунок 3 – Распространенность мутаций в группе пациентов с первичным миелофиброзом

Мутация JAK2 V617F выявлена в 53 случаях из 87 (60,9%), а мутации CALR в 15 случаях (17,2%).

Несмотря на значительное преобладание в группе женщин (в 3,1 раза), не выявлено статистически значимых различий в частоте мутации JAK2 у представителей разных полов: у мужчин она встречалась с частотой 57,1%, у женщин – 62,1%, $p=0,798$.

В группе ЭТ пациенты с мутацией JAK2 в сравнении с пациентами без таковой не имели статистически значимых различий по количеству лейкоцитов, тромбоцитов, эритроцитов, содержанию гемоглобина и ЛДГ в сыворотке крови, а также по частоте выявления органной патологии и ретикулинового фиброза, но различались по количеству эритроцитов ($p=0,036$).

Мутации CALR (17,2%) были выявлены у четырех мужчин (19,0% среди мужчин) и одиннадцати женщин (16,7% среди женщин), $p=0,751$.

Между пациентами с мутациями JAK2 и CALR и без данных мутаций выявлены возрастные различия. В данной группе медианы возрастов пациентов с мутацией JAK2 и без данной мутации составляли 62,0 и 52,5 лет соответственно, $p=0,008$, а в случае гена CALR – 46,0 лет и 61,5 год соответственно, $p=0,011$. Кроме этого медиана возраста пациентов с мутацией JAK2 (62,0 (53,0-71,0) года) была на 16 лет больше, чем у пациентов с мутациями CALR (46,0 (36,0-62,0) лет), $p=0,006$.

Первичный миелофиброз. В группе 105 пациентов с первичным миелофиброзом были выявлены все исследуемые типы мутаций трех генов (рисунок 3).

Мутация JAK2 V617F сопровождала 69 случаев ПМФ (65,7%), мутации CALR – 14 случаев (13,3%), при этом в подавляющем большинстве – DEL (13 случаев). В 6 случаях выявлена мутация W515L (5,7%).

Значимые различия в выявляемости мутаций в зависимости от пола ни для одного из типов мутаций не прослеживались.

В то же время возрастные особенности были статистически значимы. Так, медиана возраста у пациентов с мутацией JAK2 составила 64 года, без указанной мутации – 60,0 лет, $p=0,028$. Обратная зависимость наблюдалась в случае мутаций CALR – средний возраст пациентов с мутациями CALR был значимо меньше (медиана 53 года) возраста пациентов без данных мутаций – 62 года, $p=0,035$. Частота выявления мутаций CALR у пациентов старше 50 лет 8,4% (7/83) была меньше, чем среди пациентов в возрасте 50 и менее лет – 31,8% (7/22), $p=0,009$.

В отличие от групп ИП и ЭТ у пациентов с ПМФ наблюдались значимые различия по ряду лабораторных показателей и данных инструментальных исследований в зависимости от мутационного статуса. Данные проведенного анализа представлены в таблице.

Пациенты с JAK-положительным ПМФ отличались повышенными показате-

Таблица – Результаты анализа связи мутационных событий с лабораторными показателями-данными инструментальных исследований (Me (Q₁-Q₃))

Параметры	JAK2			CALR			MPL		
	Нет	Есть	p	Нет	Есть	p	Нет	Есть	p
	n=36	n=69		n=91	n=14		n=99	n=6	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,8 (4,8-12,7)	10,3 (7,0-16,4)	0,009	9,9 (6,4-15,8)	8,4 (5,5-12,6)	0,204	9,8 (6,4-15,2)	7,4 (4,6-12,1)	0,302
Эритроциты, 10 ¹² /л	3,4 (3,1-4,1)	4,5 (3,4-5,1)	0,001	4,0 (3,1-4,9)	4,0 (3,6-4,4)	0,823	4,1 (3,2-4,9)	3,7 (3,1-4,0)	0,322
Гемоглобин, г/л	97 (87-119)	129 (91-148)	0,001	114 (87-144)	120 (96-126)	0,812	117 (88-141)	104 (90-119)	0,391
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	242 (94-591)	452 (251-864)	0,023	406 (176-756)	538 (220-684)	0,576	434 (176-756)	345 (242-495)	0,629
ЛДГ, Ед/л	555 (347-753)	322 (257-501)	0,013	348 (257-558)	688 (410-769)	0,018	399 (265-598)	641 (537-698)	0,099
Патология печени	13,9% (5/36)	14,5% (10/69)	1,000	14,3% (13/91)	14,3% (2/14)	1,000	15,2% (15/99)	0% (0/6)	0,590
Патология селезенки	44,4% (16/36)	39,1% (27/69)	0,677	39,6% (36/91)	50% (7/14)	0,562	37,4% (37/99)	100% (6/6)	0,004
Ретикулиновый фиброз	96,8% (30/31)	88,9% (40/45)	0,391	90,8% (59/65)	100% (11/11)	0,584	92,9% (65/70)	83,3% (5/6)	0,400
Тромботические осложнения	6,7% (2/30)	10,4% (7/67)	0,716	10,5% (9/86)	0% (0/11)	0,591	8,8% (8/91)	16,7% (1/6)	0,452

телями лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов и уровнем гемоглобина, а также значимо меньшим уровнем ЛДГ. У пациентов с мутациями CALR был статистически значимо более высокий уровень ЛДГ. Частота органной патологии (спленомегалия) была значимо больше в группе MPL-положительных пациентов. По остальным анализируемым показателям, таким, как патологии печени, ретикулиновый фиброз, а также тромботические осложнения не выявлено каких-либо значимых различий в зависимости от мутационного статуса.

Таким образом, использование для диагностики Ph-негативных ХМПЗ тестирования пяти соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL позволяет выявлять клональный характер миелопролиферации и тем самым подтверждать диагноз в более чем 93% случаев ИП, 78% случаев ЭТ и около 85% случаев ПМФ (рисунок 4).

Наиболее весомой для диагностики, с учетом распространенности, несомненно, является мутация V617F гена JAK2. Тем не менее, тестирование мутаций генов CALR и MPL дополнительно позволяет диагностировать 17% и 19% пациентов

с ЭТ и ПМФ соответственно, а это, в соответствии с нашими данными, составляет 44,1% JAK-отрицательных случаев ЭТ (15 случаев CALR+ из 34 JAK-) и 55,6% JAK-отрицательных случаев ПМФ (20 случаев CALR+/MPL+ из 36 JAK-).

Заключение

В результате проведенного исследования показано, что использование основных маркеров клональной миелопролиферации в виде соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL позволяет проводить молекулярную диагностику истинной полицитемии, эссенциальной тромбоцитемии и первичного миелофиброза в 93,4%, 78,1% и 84,7% случаях соответственно.

Наиболее значимой для диагностики ХМПЗ является мутация V617F гена JAK2. Применение для диагностики дополнительных маркеров в виде мутаций генов CALR и MPL позволяет верифицировать диагнозы «Эссенциальная тромбоцитемия» и «Первичный миелофиброз» для 44,1% и 55,6% JAK2-негативных пациентов соответственно.

Положительный мутационный статус связан с повышением значений лейкоци-

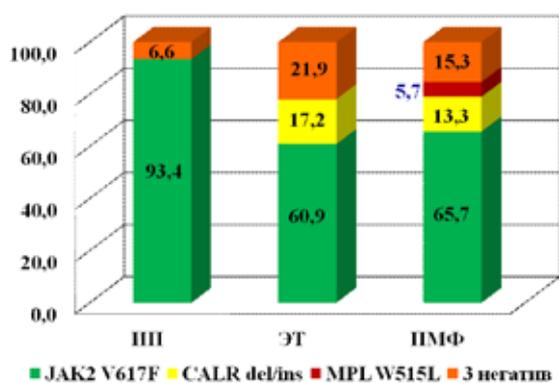


Рисунок 4 – Распространенность основных маркеров клональной пролиферации в группах пациентов с истинной полицитемией, эссенциальной тромбоцитемией и первичным миелофиброзом

тов, эритроцитов, тромбоцитов и уровнем гемоглобина, значимо меньшим уровнем ЛДГ, а также повышенной частотой спленомегалии в группе пациентов с первичным миелофиброзом.

Работа выполнена в рамках НИР «Провести поиск диагностически значимых молекулярно-генетических маркеров миелопролиферации у пациентов с хроническими миелопролиферативными заболеваниями» ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицине».

Библиографический список

1. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) / А.Л. Меликян [и др.] // Гематол. и трансфузиол. – 2014. – Т. 59, № 4. – С. 31-56.
2. Tefferi, A. JAK2 Mutations and Clinical Practice in Myeloproliferative Neoplasms / A. Tefferi // The Cancer Journal. – 2007. – Vol. 13, № 6. – P. 366-371.
3. Моисеев, С.И. Хронические миелопролиферативные заболевания. Классификация, диагностика и лечение: Пособие для

студентов, интернов, клинических ординаторов и врачей [Электронный ресурс] / С.И. Моисеев, А.Ю. Зарицкий, Г.Н. Салогуб. – СПб. – 2005. – С. 39. – Режим доступа: http://window.edu.ru/resource/209/70209/files/metod_mielo.pdf. – Дата доступа: 16.05.2016.

4. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders / E.J. Baxter [et al.] // The Lancet. – 2005. – Vol. 365, № 9464. – P. 1054-1061.

5. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. / R.L. Levine [et al.] // Cancer cell. – 2005. – Vol. 7, № 4. – P. 387-97.

6. Jones, A.V. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders / A.V. Jones // Blood. – 2005. – Vol. 106, № 6. – P. 2162-2168.

7. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera / C. James [et al.] // Nature. – 2005. – Vol. 434, № 7037. – P. 1144-1148.

8. A Sensitive Detection Method for MPLW515L or MPLW515K Mutation in Chronic Myeloproliferative Disorders with Locked Nucleic Acid-Modified Probes and Real-Time Polymerase Chain Reaction / A. Pancrazzi [et al.] // The Journal of Molecular Diagnostics. – 2008. – Vol. 10, № 5. – P. 435-441.

9. A sensitive detection method for MPLW515L or MPLW515K mutation in myeloproliferative disorders / J. Chi [et al.] // Euro. J. Exp. Bio. – 2014. – Vol. 4, № 5. – P. 33-36.

10. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms / T. Klampfl [et al.] // New England J. of medicine. – 2013. – Vol. 369, № 25. – P. 2379-2390.

11. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2 / J. Nangalia [et al.] // New England J. of medicine. – 2013. – Vol. 369, № 25. – P. 2391-2405.

**A.Silin, D. Novik, V. Martinkov, V. Koshkevich, A. Voropaeva,
A. Silina, I. Tropashko, S. Martynenko**

**MOLECULAR GENETIC TESTING OF PH-NEGATIVE
CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISEASES**

The results of the conducted study have shown that the use of the major markers of clonal myeloproliferation in the form of somatic mutations of the JAK2, CALR and MPL genes allows molecular diagnostics of polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis in 93,4%, 78,1% and 84,7% of cases respectively.

The V617F mutation of the JAK2 gene is the most significant for the diagnosis of Ph-negative chronic myeloproliferative diseases. The use of additional markers in the form of CALR and MPL genes mutations for the diagnosis allows «Essential thrombocythemia» and «Primary myelofibrosis» to be verified for 44,1% and 55,6% of JAK2-negative patients, respectively.

Positive mutational status is associated with an increase in leukocyte, erythrocyte, thrombocyte and hemoglobin level, significantly lower LDH level, as well as an increased frequency of splenomegaly in the group of patients with primary myelofibrosis.

Key words: *chronic myeloproliferative diseases, polycythemia vera, essential thrombocythemia, primary myelofibrosis, JAK2, CALR, MPL, polymerase chain reaction*

Поступила 19.09.2018