

Е.Ю. Огнева, Г.И. Бишарова

## ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗОВ У ДЕТЕЙ

Читинский филиал ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Чита)

Представлены результаты иммунофенотипирования 50 детей от 0 до 16 лет, с диагнозом острый лейкоз (ОЛ). В результате проведенного иммунофенотипирования уточнен диагноз острый лимфобластный лейкоз у 74 % больных, из них: Т-клеточный — у 20 %, В-клеточный — у 54 %; 4 % больных выставлен диагноз острого недифференцируемого лейкоза, 22 % — диагноз ОМЛ. Полученные данные о подварианте лейкоза позволяют рекомендовать данный метод в практику для совершенствования стратегии и тактики лечения ОЛ за счет избирательной интенсификации химиотерапии, осуществления программного лечения

**Ключевые слова:** лейкоз, диагностика, дети

## IMMUNOLOGICAL DIAGNOSTIC OF ACUTE LEUCOSIS

E.U. Ogneva, G.I. Bisharova

Chita Branch of SC ME ESSC SB RAMS, Chita

The outcomes of immunological diagnostic of 50 children from 0 till 16 years with the diagnosis of an acute leukemia are shown. As a result of the conducted immunological diagnostic the diagnosis an acute lymphoid leukemia in 74 % of patients, T-cell-like in 20 %, B-cell-like in 54 % was updated, in 4 % the diagnosis of an acute nondifferentiable leukemia, in 22 % diagnosis of myeloleukemia was exhibited. The obtained data about version of a leukemia allow to insert the given method in practice for perfecting policy and tactics of treatment of a leukemia at the expense of electoral intensification of a chemotherapy, implementation of programmatic treatment.

**Key words:** leukemia, diagnosis, children

Лейкозы — общее название злокачественных опухолей кроветворной ткани с поражением костного мозга. Причины опухолевых заболеваний мало изучены. Лейкозогенез у человека, видимо, имеет мультифакторный характер, причем внешние факторы, такие как облучение и вирусные инфекции, взаимодействуют с конституциональными или генетическими. Лейкозы являются наиболее распространенными онкологическими заболеваниями у детей; их доля составляет 1/3 от новых случаев опухолевых заболеваний, возникающих ежегодно у детей. В детском возрасте встречаются те же формы лейкозов, что и у взрослых, за исключением хронического лимфоцитарного лейкоза. Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) встречается в 76–82 % случаев от общего числа лейкозов [2]; остальное число случаев представлено острым нелимфобластным лейкозом (ОнеЛЛ) (17–21 % от общего числа случаев) и хроническим миелоцитарным лейкозом (3 %).

На основе концепции соответствия фенотипа озлокачествленной клетки фенотипу нормального клеточного аналога на каждом уровне дифференцировки предсказано возможным выделить ряд иммунологических вариантов, определяющих клеточную природу лейкемии, уровень блока дифференцировки клетки в лейкемической популяции.

В настоящее время не найдено истинно лейкозно-ассоциированных маркеров. При большинстве ОЛ лейкозные клетки имеют иммунофенотипы, сравнимые с нормальными гемопоэтическими

клетками аналогичных стадий дифференцировки. При ОЛЛ и ОМЛ бластные клетки рассматриваются как злокачественные аналоги нормальных клеток на ранних стадиях лимфо- и миелопоэза. Таким образом, невозможно отличить неопластическую клетку от нормальной по одному маркеру, так как те же самые маркеры, экспрессируемые злокачественными клетками, также присутствуют на их нормальных аналогах. Однако показано, что нормальные дифференцировочные антигены могут обнаруживаться на злокачественных клетках в комбинациях, которые очень редко встречаются или не выявляются в нормальном костном мозге. В норме они могут встречаться менее чем в 0,1 % случаев [5].

В связи с неоднозначностью терапевтического эффекта и различными исходами заболевания сведения, получаемые при иммунофенотипировании лейкемических клеток, вместе с другими факторами способствуют определению агрессивности опухолевого процесса и являются важными в изучении прогностической значимости иммунологических характеристик опухолевых клеток [7].

В 70-е годы длительные ремиссии (более 5 лет) наблюдались лишь у 5 % детей с острыми лейкозами. Успехи, достигнутые в гематологии в последнее десятилетие, позволили кардинально изменить исходы острых лейкозов, еще совсем недавно считавшихся абсолютно фатальными заболеваниями. Ремиссия при остром лимфобластном лейкозе достигается у 95 % больных, при остром

миелобластном лейкозе — у 90 % больных. У 70 — 75 % детей, больных ОЛЛ, удается получить столь длительные ремиссии, что они могут считаться излеченными, а 40 — 50 % детей с ОМЛ живут более 3 — 6 лет [1, 3].

Такие результаты стали возможны благодаря совершенствованию диагностики и лечения ОЛ за счет избирательной (с учетом факторов риска) интенсификации химиотерапии, осуществления программного лечения, широкого внедрения в практику трансплантации костного мозга.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе представлены данные, полученные при иммунофенотипировании 50 детей в возрасте от 0 до 16 лет, находившихся на лечении в онкогематологической клинике Читинского филиала ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН в 2002 — 2006 гг., направленных с диагнозом ОЛЛ.

Иммунофенотипирование лейкозных клеток выполняли методом иммуноцитохимии с использованием системы визуализации En Vision + и МКА производства фирмы «ДАКО» (Дания). Были исследованы следующие антигены: CD19, CD20, CD22 (В-линейные); CD3, CD7 (Т-линейные); CD13, CD33 (миелоидные). Изучение окрашенных препаратов проводили на микроскопе Микмед (ЛОМО).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

**Целью нашей работы** явилось изучение значения иммунофенотипирования для повышения качества диагностики и терапии больных гемобластомами.

Для достижения цели было проведено иммунофенотипирование бластных клеток методом иммуноцитохимии маркерами CD3, CD7 (Т-линейные), CD19, CD20, CD22 (В-линейные), CD13, CD33 (миелоидные).

В таблице 1 представлена иммунофенотипическая характеристика 50 случаев ОЛ диагностированных в 2002 — 2005 гг.

Согласно классификации Европейской группы по иммунологической классификации лейкозов, выделяют 4 основных группы ОЛ:

- острые лимфобластные лейкозы;
- острые миелобластные лейкозы;

- бифенотипические острые лейкозы (БОЛ);
- недифференцированные острые лейкозы [6].

В группе ОЛЛ выделяют Т-линейные и В-линейные лимфолейкозы, а также ОЛЛ с коэкспрессией миеломаркеров. В группе ОМЛ выделяют подтипы в соответствии с пораженным ростком миелопоэза, а также низкодифференцированный ОМЛ и ОМЛ с коэкспрессией лимфоидных маркеров.

У 10 больных детей, направленных с диагнозом ОЛ, наблюдалась экспрессия Т-линейных маркеров, в результате чего им был выставлен диагноз Т-ОЛЛ.

В результате иммунофенотипирования бласты 27 детей экспрессировали В-линейные маркеры, этим больным был выставлен диагноз В-линейный ОЛЛ. В мазках костно-мозгового субстрата 11 больных с направительным диагнозом ОЛ, наблюдалась экспрессия маркеров миелоидной линии, этим больным был поставлен диагноз ОМЛ. У 2 больных не наблюдалось экспрессии исследуемых маркеров, в результате чего им был выставлен диагноз Недифференцируемый ОЛ.

У ряда больных наблюдалась коэкспрессия неродственных маркеров. По данным литературы, частота такой коэкспрессии при ОЛ составляет от менее 1 до 50 %. Такой разброс зависит от числа диагностических критериев, использования различных панелей МКА и неспособности отдельных антител узнать линию бластов. Приводятся данные о более 50 % коэкспрессии миеломаркеров при ОЛЛ (Му + ОЛЛ), более 40 % коэкспрессии лимфоидных маркеров при ОМЛ (Лу + ОМЛ) и менее 2 % случаев с одновременной экспрессией Т- и В-клеточных маркеров. По нашим данным коэкспрессия Лу + ОМЛ наблюдалась в 8 % случаев МЛ, коэкспрессия Му + ОЛЛ в 6 % [4].

Коэкспрессию маркеров разных линий ряд исследователей объясняют тем, что лейкомогенез — это не абсолютный блок клеточной дифференцировки, а объединение беспорядка созревания и пролиферации, дающее возможность экспрессии антигенов, которые в норме отсутствуют.

Таким образом, иммунофенотипирование позволяет получить необходимую информацию о

Таблица 1

Распределение основных маркеров на бластных клетках при лейкозах

	Маркер	Частота выявления, n = 50	
		количество	%
Т-ОЛЛ	CD3	12	24
	CD7	11	22
В-ОЛЛ	CD19	22	44
	CD20	17	34
	CD22	25	50
ОМЛ	CD13	5	10
	CD33	14	28

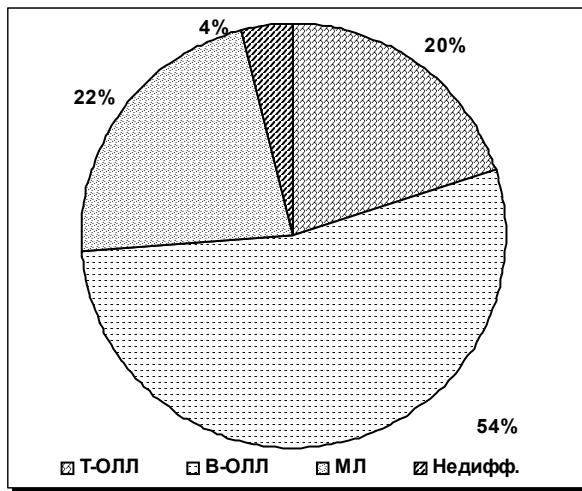


Рис. 1. Распределение форм лейкоза у детей.

линейном происхождении и степени дифференцировки бластных клеток. У всех обследованных больных с ОЛЛ уточнился топический диагноз, что позволило качественно использовать необходимый протокол лечения и снизить затраты на лечение.

Все вышеизложенное позволяет рекомендовать внедрение метода иммунофенотипирования в гематологических отделениях Читинской области.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирская Е.Б. Биологические основы противоопухолевой терапии / Е.Б. Владимирская. — М.: Медицина, 2001. — 110 с.
2. Иммунологический фенотип лейкозной клетки / А.Ю. Барышников, З.Г. Кадагидзе, Л.А. Махонова и др. — М.: Медицина, 1989. — 112 с.
3. Румянцев А.Г. Результаты лечения острых лейкозов у детей с использованием программ интенсивной терапии / А.Г. Румянцев, Е.В. Самочатова, Н.М. Жесткова и др. // Гематология и трансфузиология. — 1994. — № 2. — С. 21 — 25.
4. Acute biphenotypic leukaemia immunophenotypic and cytogenetic analysis / С.А. Hanson, М. Abaza, S. Sheldon et al. // Br. J. Haematol. — 1993. — Vol. 84, N 1. — P. 49 — 60.
5. Drach J. Flow cytometric determination of atypical antigen expression in acute leukemia for the study of minimal residual disease / J. Drach, D. Drach, H. Glassl et al. // Cytometry. — 1992. — Vol. 13, N 8. — P. 893 — 901.
6. European Group for the Immunological Characterization of Leukemia (EGIL): Proposal for the immunological classification of acute leukemias // Leukemia. — 1995. — Vol. 9. — P. 1783.
7. Prognostic significance of myeloid-associated antigen expression on blast cells in children with acute lymphoblastic leukemia / К.М. Fink, U. Koller, H. Mayer et al. // Med. Pediatr. Oncol. — 1993. — Vol. 21, N 5. — P. 340 — 346.