

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«ТЮМЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ
Кафедра зоологии и эволюционной экологии животных

Заведующий кафедрой
доктор биол. наук, профессор
С.Н. Гашев

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
магистра

ОЦЕНКА МИЕЛОГРАММ И НЕКОТОРЫХ ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ ИНДЕКСОВ
У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ

06.04.01. Биология
Магистерская программа «Зоология позвоночных»

Выполнила работу
студентка 2 курса
очной формы обучения

Пянчук Татьяна Анатольевна

Научный руководитель
канд. биол. наук
доцент

Турбасова Наталья Вячеславовна

Рецензент
д.м.н., заведующая
кафедрой биологии
ГБОУ ВПО
«Тюменский государственный
медицинский университет,
Министерства здравоохранения РФ»

Соловьева Светлана Владимировна

Тюмень
2020

АННОТАЦИЯ

с. 79, прил. 1, рис. 5, табл. 9, библи. 72.

Выявлено, что за период с 2007 по 2016 гг. отмечен рост числа населения Тюмени и Тюменской области с впервые выявленными случаями лейкозов. С 2007 г. по 2016 г. в г. Тюмени и Тюменской области отмечено увеличение числа пациентов с впервые выявленными случаями острого лимфобластного лейкоза - с 9 человек в 2007 г. до 18 человек в 2016 г. Среди пациентов с острым лимфобластным лейкозом за весь период исследования преобладали мужчины. Анализ различных серий лейкоцитов в крови детей, больных острым лимфобластным лейкозом, выявил смещение лейкоформулы в сторону лимфоцитарного ростка с явлением бластемии. Качественным подтверждением наличия патологического процесса в костном мозге явилась регистрация положительной ШИК-реакции и отрицательной реакции на миелопероксидазу в лимфоидном ростке. У больных детей выявлено повышение количества бластных элементов в костном мозге с угнетением нормальных ростков кроветворения. Об активации лейкоцитарного ростка кроветворения свидетельствует лейкоэритробластическое отношение, которое было смещено в сторону лейкоцитов. У больных ОЛЛ, снижение значений лейкоцитарных индексов ЭИ (ЛИИ по Кальф-Калифа, ИСЛК, ИК, РОН) свидетельствует о снижении фагоцитарной активности нейтрофилов, что может быть связано с иммуносупрессивным действием цитостатиков. Низкие значения индекса ИЛСОЭ свидетельствуют о наличии интоксикации, которая связана с инфекционным процессом. Высокие значения индекса активности воспаления (ИЛГ) и индекса неспецифической реактивности организма (ЛИ) свидетельствуют о наличии аутоинтоксикации а также о тяжелом воспалительном процессе в организме всех пациентов и об активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, иммунитет, химиотерапия, миелограмма, лейкограмма, ШИК-реакция, дети, лейкоцитарные индексы, интоксикация.

ANNOTATION

p. 79, appl. 1, fig. 5, tab. 9, bibl. 72.

It was revealed that for the period from 2007 to 2016. An increase in the population of Tyumen and the Tyumen region with newly diagnosed cases of leukemia was noted. From 2007 to 2016, an increase in the number of patients with newly diagnosed cases of acute lymphoblastic leukemia was observed in Tyumen and the Tyumen Region - from 9 people in 2007 to 18 people in 2016. Among patients with acute lymphoblastic leukemia for the entire period research was dominated by men. Analysis of various series of leukocytes in the blood of children with acute lymphoblastic leukemia revealed a displacement of the leukoformula towards the lymphocyte germ with the phenomenon of blastemia. Qualitative confirmation of the presence of a pathological process in the bone marrow was the registration of a positive SIC reaction and a negative reaction to myeloperoxidase in a lymphoid germ. In sick children, an increase in the number of blast elements in the bone marrow with inhibition of normal sprouts of blood formation was revealed. The activation of the leukocyte germ of hematopoiesis is evidenced by the leukoerythroblastic ratio, which was shifted towards leukocytes. In patients with ALL, a decrease in the values of leukocyte index EI (LII according to Kalf-Kalif, ISLB, IR, NRR) indicates a decrease in the phagocytic activity of neutrophils, which may be associated with the immunosuppressive effect of cytostatics. Low values of the ILSOE index indicate the presence of intoxication, which is associated with the infectious process. High values of the index of activity of inflammation (ILH) and the index of nonspecific reactivity of the body (LI) indicate the presence of auto-toxicity and also a severe inflammatory process in the body of all patients and the activation of the second line of defense - lymphocytes that realize a specific immune response.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, immunity, chemotherapy, myelogram, leukogram, SIC reaction, children, leukocyte indices, intoxication.

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	7
ГЛАВА 1. ОБОЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА.....	9
1.2. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ.....	10
1.3. ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ.....	11
1.3.1. Классификация.....	11
1.3.2. Клиника.....	13
1.3.3. Диагностика.....	16
1.3.4. Лечение.....	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.1. МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	36
2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	38
2.2.1. Клиническое исследование крови.....	38
2.2.2. Биопсия костного мозга.....	41
2.2.3. Цитохимия.....	41
2.2.4. Метод подсчёта лейкоцитарных индексов.....	42
2.2.5. Метод статистической обработки результатов исследования.....	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	48
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	65
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК.....	66

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АКЛ – Абсолютное количество лимфоцитов
- АЛТ – аланинаминотрансфераза
- АСТ(АсАТ) – аспартатаминотрансфераза
- ГЗТ – Гиперчувствительность замедленного типа
- ГНТ – Гиперчувствительность немедленного типа
- ГПИ – Гематологический показатель интоксикации
- ДВС-синдром – диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
- ИВЛ – искусственная вентиляция легких
- ИК – Индекс Кребса
- ИЛГ – Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс
- ИЛСОЭ – Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ
- ИРО – индекс резистентности организма
- ИСЛК – Индекс сдвига лейкоцитарных клеток
- КФ – кислая фосфатаза
- КЩС – кислотно-щелочное состояние
- ЛДГ – лактатдегидрогеназы
- ЛИ – Лейкоцитарный индекс
- ЛИИ – Лейкоцитарный индекс интоксикации
- МАТ – моноклональные антитела
- МПО – реакция на миелопероксидазу
- НЭ – неспецифическая эстераза
- ОЛ – острый лейкоз
- ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз
- ОМЛ – острый миелобластный лейкоз
- ОПН – острая печеночная недостаточность
- ПАС – реакция на гликоген (PAS-реакция)
- ПТИ – протромбиновый индекс

РДСВ – респираторный дистресс-синдром взрослых

РОН – Реактивный ответ нейтрофилов

СМЖ – спинномозговая жидкость

СОЭ (РОЭ) – скорость (реакция) оседания эритроцитов

СЧБ – реакция с суданом черным Б

ХАЭ – хлорацетат-эстераза

ЦНС – центральная нервная система

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭКГ – электрокардиография

ЭИ – эндогенная интоксикация

ЯИ – Ядерный индекс

Ig– иммуноглобулин

ВВЕДЕНИЕ

Лейкоз (лат. Leukosis, белый -osis; синонимы: лейкемия, белоокровие) – опухоль, возникающая из кроветворных клеток с обязательным поражением костного мозга и вытеснением нормальных ростков кроветворения.

Проблема заболеваемости острым лейкозом сейчас очень актуальна. Лейкозы являются наиболее распространенными онкологическим заболеванием. Их доля составляет 1/3 от новых случаев опухолевых заболеваний, возникающих ежегодно у детей. Заболеваемость лейкозом неодинакова в различных возрастных и этнических группах. Ежегодная средняя частота возникновения острых лейкозов составляет 2-4 случая на 100 000 населения, при этом с возрастом частота заболевания прогрессивно увеличивается для острых миелобластных лейкозов, они встречаются в 5-6 раз чаще лимфобластных. Острые лимфобластные лейкозы встречаются в основном в детском и юношеском возрасте.

Для более точного подбора схем лечения не маловажным значением является наличие лейкоцитарных индексов интоксикации, которые являются показателем процессов тканевой деградации и уровня эндогенной интоксикации. Представляют собой соотношение уровня клеток, повышающихся при воспалительных и гнойных процессах (нейтрофильные лейкоциты — миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные), к клеткам, количество которых при этих процессах может снижаться (лимфоциты, моноциты, эозинофилы).

Целью работы явилась оценка миелограмм и некоторых лейкоцитарных индексов у больных острым лимфобластным лейкозом.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- 1) изучить эпидемиологическую ситуацию по заболеваемости лейкозами среди жителей г. Тюмени и Тюменской области за период 2007-2016 гг.;
- 2) провести цитохимические исследования лейкозных клеток на миелопероксидазу и ШИК-реакцию;

3) изучить показатели периферической крови (количество лейкоцитов, лейкоформулы, скорость оседания эритроцитов) и костного мозга у детей больных острым лимфобластным лейкозом, проходивших лечение в ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1» (г. Тюмени);

4) на основании данных лейкограмм рассчитать некоторые лейкоцитарные индексы (ЛИИ, ЛИ, ИРО, ИК, ИСЛК, РОН, ИЛСОЭ, ИЛГ) у пациентов с острым лимфобластным лейкозом.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА

Лейкемию впервые выделил как нозологическую форму и отметил её неоднородность Р. Вирхов в 1845 году. Н. Фридрейх (1857) предложил различать острые и хронические формы лейкоза, основываясь на морфологии лейкозных клеток. П. Эрлих в 1901 году описал качественные изменения в крови при лейкозах, Шульц (1909) указал на необходимость использования цитохимических методов для идентификации формы острого лейкоза [Бутенко 216с., Рукавицына, 2015. 776 с.].

В 1867 году К. Славянский, а также А. И. Щастный и в 1904 году Г. Банти предположили опухолевую природу лейкозов. К. Циглер (1906) выступил с гипотезой о метастазировании лейкемических клеток. В 1916 году П. Моравиц высказал мысль об обособленности миелоидной и лимфатической форм лейкоза и принципиальной невозможности перехода одной формы в другую [Филатов, с. 79-87].

Прижизненная диагностика лейкоза улучшилась после внедрения методов пункции костного мозга – трепанобиопсии. В понимании патогенеза лейкоза большую роль сыграли такие методы исследования, как клонирование и культивирование кроветворных клеток *in vitro* и хромосомный анализ.

Начало патогенетической терапии лейкоза относят к 1948 году. Когда С. Фарбер впервые добился ремиссии острого лейкоза у ребенка, применив метотрексат; дальнейшие успехи лечения связаны с использованием схем прерывистой полихимиотерапии, впервые предложенных Э. Фрайрайхом в 1964 году [Бутенко, Барановский, Науменко 216 с].

Кроме того, на основании иммуноцитохимических данных иногда можно говорить как об остром бифенотипическом лейкозе (имеются признаки как миелоидного, так и лимфоидного лейкозов), так и об остром недифференцированном лейкозе (отсутствуют признаки как миелоидного, так и лимфоидного лейкозов). Субстратом острых лейкозов являются незрелые

(бластные) клетки; а субстратом хронических лейкозов – зрелые и созревающие клетки. Бытовавшее ранее представление о том, что острые лейкозы протекают остро, а хронические – хронически, верно далеко не всегда.

1.2. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ

Причинами возникновения лейкозов человека могут быть нарушения состава и структуры хромосомного аппарата как наследственно обусловленные, так и приобретенные под влиянием некоторых мутагенных факторов, одним из которых является ионизирующее излучение. Доказано учащение возникновения острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) спустя 8-11 лет после локального облучения тимомы. Локальное фракционированное рентгеновское облучение позвоночника по поводу спондилеза в суммарной дозе 2250 рад резко повышает заболеваемость острым лейкозом [Филатов, Ч.П. Терап. арх. Т. 79, № 11. с. 79-87].

Применение радиоактивного фосфора (^{32}P) при лечении эритремии впоследствии также способствует развитию острого лейкоза у 10% всех лечившихся; это в 10 раз превышает частоту возникновения его в контрольной группе.

Причиной развития лейкоза является также действие химических мутагенов. Значительное учащение острых лейкозов отмечено среди лиц, подвергшихся воздействию бензола, больных длительно получавших цитостатические иммунодепрессанты (Имуран, Лейкеран, Сарколизин). Факты возникновения острого миелобластного лейкоза, острого эритромиелоза на фоне длительной химиотерапии хронического лимфолейкоза, макроглобулинемии Вальденстрема и других лимфопролиферативных заболеваний, а также возникновение острых лейкозов на фоне химиотерапии ревматоидного полиартрита, гранулематоза Вегенера подтверждают предположение о провоцирующей роли химических факторов в развитии лейкоза [Рукавицына, Скворцов, Зенина 2009. 256 с., Хронический миелобластный лейкоз., Хронический лимфолейкоз].

Показана предрасполагающая к лейкозам роль наследственных дефектов миелоидной и лимфатической тканей. Отмечено заметное учащение случаев острого миелобластного лейкоза, острого эритромиелоза и хронического миелолейкоза у больных с синдромом Дауна (трисомия по 21 паре хромосом), с. Блума (спонтанные разрывы хромосом), у лиц с наследственной патологией, обусловленной не расхождением половых хромосом (с. Клайнфелтера, с. Шерешевского-Тернера). При с. Луи-Бар, с. Вискотта-Олдрича, с. Брутона, характеризующихся наличием наследственных дефектов в иммунной системе, учащены случаи лимфобластного лейкоза; повышение частоты ОЛ отмечается у кровных родственников пробандов [Волкова. 576 с., Вилкинсон 623 с].

1.3. ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ

Острые лейкозы – злокачественные заболевания системы крови, субстратом которых обычно являются ранние (не вступившие в процесс созревания) гемопоэтические клетки-предшественники миелоидной и лимфоидной направленности. При острых лейкозах основная масса опухолевых клеток представлена бластами [Бутенко, Барановский, Науменко 216 с].

1.3.1. Классификация

В зависимости от направленности опухолевых клеток (бластов) различают:

- острые миелоидные (миелобластные) лейкозы (ОМЛ);
- острые лимфоидные (лимфобластные) лейкозы (ОЛЛ) [Маянский, Невмятуллин с. 43-46, Рукавицина 256 с].

Они представлены многими нозологическими формами. Острые миелобластные лейкозы дифференцируют по пяти цитохимическим признакам – наличию или отсутствию в лейкозных клетках следующих веществ: пероксидазы, кислой фосфатазы, неспецифических эстераз, липидов и гликогена. К ним принадлежат:

Мо – острый недифференцированный лейкоз.

M₁ – острый миелобластный лейкоз без признаков созревания (≤ 3 % промиелоцитов).

M₂ – острый миелобластный лейкоз с признаками созревания (> 3 % промиелоцитов).

M₃ – острый промиелоцитарный лейкоз (> 30 % промиелоцитов).

M₄ – острый миеломонобластный лейкоз (≥ 20 % промиелоцитов и ≥ 20 % промоноцитов).

M₅ – острый монобластный лейкоз.

M₆ – острый эритробластный лейкоз.

M₇ – острый мегакариобластный лейкоз.

Острые лимфобластные лейкозы различают и по цитохимическим, и по морфологическим признакам:

- Острый лейкоз общего типа – из клеток – предшественниц В-лимфоцитов.

- Т-лимфобластный лейкоз.

- В-лимфобластный лейкоз.

Согласно ФАБ-классификации, все острые лимфобластные лейкозы делятся на три группы – L₁, L₂, L₃. Это деление базируется на следующих морфологических характеристиках лейкозных клеток: размеры клеток, характер хроматина, форма ядра и ядрышек, количество цитоплазмы, интенсивность базофилии, вакуолизация цитоплазмы:

L₁ – лейкоз, при котором преобладают малые лимфоидные клетки.

L₂ – лейкоз с типичными лимфобластами.

L₃ – макролимфобластный лейкоз.

В ФАБ-классификации необычным является то, что острый недифференцированный лейкоз принадлежит к группе миелоидных лейкозов. Раньше его выделяли отдельно или даже относили к лимфоидным. Перестановка объясняется тем, что сейчас количество острых недифференцированных лейкозов резко сократилось в связи с выделением в качестве отдельной нозологической формы лейкоза общего типа из клеток –

предшественниц В-лимфоцитов. А те лейкозы, которые остались в группе недифференцированных, очень похожи на лейкозы миелоидной линии [Казанова, Добренков №3. с.45-48, Осипов №8. с. 36-39, Созыкин №1. с. 54-56, Цой, Пак 196 с].

1.3.2. Клиника

Фазы заболевания

Различают первично-активную фазу острого лейкоза (вновь диагностированный лейкоз до момента достижения ремиссии), ремиссию и рецидив заболевания. Ремиссия острого лейкоза может быть клинико-гематологической, цитогенетической, молекулярно-генетической в зависимости от наличия соответствующих признаков заболевания. Полная клинико-гематологическая ремиссия определяется как наличие менее 5% бластов в морфологически нормальном костном мозге при нормальной периферической крови (т. е. гемоглобин более 120г/л, полиморфноядерные нейтрофилы более $1,5 \times 10^9$ /л, тромбоцитов более 100×10^9 /л). Рецидив острого лейкоза означает появление признаков заболевания после периода ремиссии. В зависимости от длительности ремиссии различают ранний (длительность ремиссии до года) и поздний (длительность ремиссии больше года) рецидивы. Разделение рецидивов по срокам их развития важно для определения тактики противорецидивной терапии и дальнейшего прогноза. Известно, что ранние рецидивы имеют худший прогноз в плане эффективности противорецидивного лечения и длительности второй ремиссии, если она достигнута. Фазы заболевания отражают размеры опухолевой массы. Так, клинико-гематологическая манифестация острого лейкоза происходит при наличии в организме более 10^{12} опухолевых клеток. При достижении клинико-гематологической ремиссии (отсутствие клинических проявлений и рутинных лабораторных признаков заболевания) количество опухолевых клеток менее 10^9 . В то время как молекулярно-генетическая ремиссия (отсутствие

молекулярных маркеров заболевания) подразумевает наличие в организме менее 10^5 опухолевых клеток [Алексеева. 543 с., Бутенко, Барановский, Науменко 216 с].

Бластные клетки (субстрат опухоли) вытесняют и угнетают нормальные ростки кроветворения, что приводит к анемии, тромбоцитопении, гранулоцитопении. Следовательно, клинически проявляться острый лейкоз может анемией, геморрагическим синдромом, связанным с тромбоцитопенией и инфекционными осложнениями, являющимися следствием нейтропении. Кроме того, поскольку острый лейкоз – злокачественная опухоль, нередко признаки опухолевой интоксикации. Основные клинические симптомы и синдромы – общие для лимфобластных и миелобластных лейкозов.

Анемический синдром развивается вследствие угнетения эритроидного ростка кроветворения и/или имеет постгеморрагический генез. Бледность, общая слабость, тахикардия и одышка при незначительных физических нагрузках – наиболее частые проявления этого синдрома.

Геморрагический синдром отражает угнетение мегакариоцитарного ростка кроветворения, что проявляется снижением количества тромбоцитов в различной степени в периферической крови. ДВС-синдром, присущий злокачественным опухолям, также может служить причиной геморрагического синдрома. Признаками тромбоцитопении являются петехиальные кровоизлияния в кожные покровы, особенно в местах физического воздействия на них (под манжетами тонометров и местах нахождения электродов при снятии ЭКГ, под резинками одежды). Другими проявлениями геморрагического синдрома являются кровоизлияния по гематомному типу в кожные покровы, слизистые оболочки: десневая и носовая кровоточивость, субсклеральные и субконъюнктивальные кровоизлияния. Желудочно-кишечные кровотечения, легочное кровотечение (кровохарканье) и кровоизлияния в головной мозг также могут встречаться в рамках геморрагического синдрома и значительно реже как дебют его [Ковалева с. 272, Менткевич, Маякова с. 384].

Синдром инфекционных осложнений нередко является самым первым проявлением острого лейкоза. Пневмонии, тонзиллиты, инфекции мочевыводящих путей служат поводом для госпитализации больных в стационар, и при обследовании этих больных выявляется острый лейкоз. Часто встречаются стоматиты. Нередко отмечаются вирусные инфекции, чаще всего герпетические. При этом необходимо обратить внимание на рефрактерное течение инфекций, несмотря на адекватную антибактериальную терапию. Вследствие нарушения гранулоцитопоеза и лимфопоэза (вытеснение опухолевым клоном нормального миелопоэза) отмечается резкое снижение как клеточного, так и гуморального иммунитета, что делает больных беззащитными перед инфекциями.

Синдром опухолевой интоксикации чаще возникает при наличии большой опухолевой массы, маркерами которой являются гиперлейкоцитоз, высокий уровень лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) в сыворотке крови, гиперурикемия (повышенное содержание мочевой кислоты в крови). Этот синдром, как правило, проявляется фебрильной температурой тела у больного даже в отсутствии инфекции, общей астенизацией пациента: похудение, отсутствие аппетита, апатия.

Лейкемическая инфильтрация различных тканей, включая печень (гепатомегалия), селезенку (спленомегалия), кожу (лейкемиды), лимфатические узлы (лимфаденопатия), кости (оссалгии), десен (гингивиты) и центральную нервную систему (ЦНС), может проявляться различными другими симптомами [Причины возникновения лейкозов ... , Семин, Донник, Самуйленко с. 62-65].

Гиперлейкоцитоз с количеством лейкоцитов в периферической крови более 100 000 в мкл для острого миелоидного лейкоза и более 300 000 в мкл для острого лимфоидного лейкоза может приводить к симптомам, связанным с лейкостазом. При этом наблюдаются различные нарушения зрения, центральной нервной системы, нарушения микроциркуляции других органов, кровоточивость. Также могут встречаться метаболические нарушения

(гиперурикемия, гипокальциемия и другие), хотя они редко бывают первым проявлением болезни [Филатов с. 79-87].

В легких, миокарде и других тканях и органах могут появляться лейкозные бластные инфильтраты. Обычно эти симптомы наблюдаются на фоне «немотивированной» лихорадки.

Острый миелобластный и острый миеломонобластный лейкоз наиболее часто встречается у взрослых. В начале заболеваний печень и селезенка обычно нормальных размеров, лимфатические узлы не увеличены. Экстрamedуллярные лейкозные очаги выражены слабо, появление их (увеличение селезенки, печени, инфильтрация яичек, кожи и др.) означает наступление позднего этапа опухолевой прогрессии. Частота полных ремиссий при миелобластном лейкозе варьирует от 30% до 50%. Эти формы острого лейкоза, вначале нередко характеризуется глубокой цитопенией, тромбоцитопенией, СОЭ при этом может быть нормальной или незначительно ускоренной [Рагимова. Трансфузиология. 1184 с., Сибиркин, Горелов Лейкозы: Клиника. 46 с].

Ремиссией острого лейкоза называют состояние, при котором у больного в костном мозге обнаруживается менее 5% бластов (в крови они отсутствуют); менее 30% лимфоидных клеток; в крови более 100 000 тромбоцитов и более 3 000 лейкоцитов в 1 мкл при тенденции к увеличению их количества; отсутствуют внекостномозговые лейкозные пролифераты. Для лимфобластного лейкоза у детей обязательным критерием полноты ремиссии является нормальный состав цереброспинальной жидкости. Выздоровлением от острого лейкоза принято считать состояние полной ремиссии на протяжении не менее 5 лет [Владимирская, Казначеев с. 3-10, Канаев с. 8-20].

1.3.3. Диагностика

Диагноз острого лейкоза устанавливается на основании морфологического исследования периферической крови и аспирата костного мозга. Поэтому всем больным с подозрением на острый лейкоз, помимо исследований периферической крови, показано выполнение аспирационной

биопсии костного мозга. Последняя, как правило, выполняется из тела либо из рукояти грудины (стернальная пункция), но может использоваться пункция задне-верхних бугров подвздошных костей с последующей аспирацией костного мозга.

Наиболее доступным для применения в лабораторной практике являются цитохимические методы исследований. Наиболее широко используются реакции определения активности миелопероксидазы (МПО), щелочной и кислой фосфатазы (ЩФ и КФ), неспецифической α -нафтилацетатэстеразы (α -НЭ), кислой неспецифической эстеразы (КНЭ), нафтол-AS-D-хлорацетатэстеразы (ХАЭ), окраска липидов суданом черным Б (СЧБ) и PAS-реакция (табл. 1) [Гриншпун, Пивник 728 с., Менткевич, Маякова 384 с., Рукавицына, Скворцов, Зенина 2009. 256 с].

Для определения иммунофенотипа клеток могут быть использованы различные методы (иммунофлуоресцентные, иммуноцитохимические), в основе которых лежит общий принцип: связывание клеточного антигена со специфическим антителом и определение места связывания при помощи конъюгированных с флуоресцентной или ферментной меткой антител «второго этапа» в светооптическом или люминесцентном микроскопе, или при помощи проточного цитофлюориметра.

Основы иммунодиагностики лейкозов были заложены в 70-х годах с появлением технологии получения моноклональных антител (МАТ), с помощью которых стало возможным определить антигенные клеточные структуры, объединенные общим термином «кластер дифференцировки – CD». Совокупность таких молекул отражает фенотип клетки и позволяет установить их линейную принадлежность, стадию дифференцировки, метаболическую и пролиферативную активность. К настоящему времени известно более 247 антигенных структур – CD, локализованных на мембране клеток различных ростков гемопоэза.

Цитохимические показатели бластов основных форм острого лейкоза

Формы лейкоза	Цитохимические реакции						
	на ПО	с СЧБ на липиды	на КФ	ШИК-реакция (на гликоген)	На α -НЭ	на ХАЭ	на кислые сульфатированные МПС
ОЛЛ	-	-	Иногда+	+ в виде глыбок	- иногда слабо+	- иногда слабо+	-
M1	+	+	+	+ диффузная или диффузно-гранулярная	Слабо+ неподавляемая NaF	+	-
M3	Резко+	+	+ не всегда	Резко+ преимущественно в диффузном виде	Слабо+ неподавляемая NaF	Резко+	+
M5	Слабо+	Слабо+	Высоко+	Слабо+ диффузная или диффузно-гранулярная	+ подавляемая NaF	-	-
M4	+высокая ниже, чем при ОМЛ	Слабо+	+ ниже, чем при M5	+ диффузная или диффузно-гранулярная	+ ниже, чем при M5 подавляемая NaF	Слабо+	-
M6	Реакции зависят от принадлежности бластных элементов к тому или иному ряду (M1, M5, M0)			+ в виде гранул или диффузная в эритрокариоцитах и эритроцитах	В зависимости от характера бластов		-
M0	-	-	-	-	-	-	-
M7	Отсутствуют специфические ЦХ признаки ,выделяется по характерной морфологии патологических клеток						
Плазмобластный	Отсутствуют специфические ЦХ признаки ,выделяется по характерной морфологии патологических клеток и наличию парапротеина в сыворотке крови						

Основы иммунодиагностики лейкозов были заложены в 70-х годах с появлением технологии получения моноклональных антител (МАТ), с помощью которых стало возможным определить антигенные клеточные структуры, объединенные общим термином «кластер дифференцировки – CD». Совокупность таких молекул отражает фенотип клетки и позволяет установить

их линейную принадлежность, стадию дифференцировки, метаболическую и пролиферативную активность. К настоящему времени известно более 247 антигенных структур – CD, локализованных на мембране клеток различных ростков гемопоэза.

Линейно неограниченные (нерестригированные) антигены – антигены, экспрессия которых не ограничена одной клеточной линией (CD34, CD38, HLA-DR, TdT).

Линейно ассоциированные (специфические) антигены – антигены, которые специфически экспрессируются на некоторых линиях миелоидной (CD13, CD33, CD117, CD65, CD14, CD15, CD41, CD42, CD61 и др.) или лимфоидной дифференцировки (CD19b, CD22b, CD5b, CD3bсIg, sIg).

Дифференцировочные антигены – антигены, отражающие стадии дифференцировки клеток (цитоплазматический IgM, κ-, λ-легкие цепи Ig, CD34, CD10, CD1aи др.).

Активационные антигены отражают активацию клеток (CD25, CD38, HLA-DRи др.) [Скворцов, Скворцова, Мязин с. 12-15].

Генетические исследования являются обязательными как на стадии диагностики, так и в динамике заболевания. Некоторые геномные нарушения строго ассоциированы с характерной клинической и иммунологической картинами заболевания. Во время диагностики кариотип является важным прогностическим фактором. Особенно значимыми являются специфические хромосомные нарушения, изменения модального числа хромосом. А также имеющиеся клональные аномалии [Морозова 150 с., Савченко 200 с.].

В 1976 г. Франко-американо-британская группа разработала ФАБ-классификацию острых лейкозов. В основе классификации лежали морфологические и цитохимические характеристики клеток костного мозга и периферической крови. В 1981, 1985 и 1987 гг. в классификацию вносились дополнения. В настоящее время ФАБ-классификация дополнена данными иммунологических и цитогенетических исследований, которые позволяют сделать более точные выводы о природе клеток злокачественно

трансформированного клона (табл. 2)[Рукавицына, Скворцов, Зенина 2009. 256 с].

Морфологические критерии острых лейкозов

M0 – Острый миелоидный лейкоз с минимальной дифференцировкой бластных клеток. $\geq 20\%$ бластов. Бласты с округлой формой ядра, без азурофильной зернистости $< 3\%$ бластов позитивны на МПО, СЧ, НЭ (не подавляется NaF). $\geq 20\%$ бластов экспрессируют один или более миелоидных антигенов: CD13, CD14, CD33 (рис. 1.1, приложение 1).

M1 – Острый миелобластный лейкоз без созревания. $\geq 20\%$ бластов. Бласты с округлой формой ядра, азурофильная зернистость $< 10\%$ бластов. $\geq 3\%$ бластов позитивны на МПО, СЧ, НЭ (не подавляется NaF). $< 10\%$ моноцитов, промиелоцитов и созревающих гранулоцитов. Бласты позитивны на CD13, CD14, CD33 (рис. 1.2, приложение 1).

Таблица 2

ФАБ-классификация ОМЛ и ассоциированные с вариантами хромосомные абберации

ФАБ-вариант	Характеристика варианта по данным исследования аспирата костного мозга	Частота встречаемости (%)	Ассоциируемые хромосомные нарушения (%случаев)	Вовлеченные гены
1	2	3	4	5
M0	Острый миелоидный лейкоз с минимальной дифференцировкой бластных клеток	3	inv(3q26);t(3;3) (1%)	EV11
M1	Острый миелобластный лейкоз без созревания	15 – 20	-	-
M2	Острый миелобластный лейкоз с созреванием	25 – 30	t(8;21) (40%) t(6;9) (1%)	AML1-ETO DEK-CAN
M3	Острый промиелоцитарный лейкоз	5 – 10	t(15;17) (98%)	PML-RAR α
M3v	Микрогранулярный вариант ОПЛ (большой лейкоцитоз, минимальная грануляция в бластах, редкие палочки Ауэра)	-	t(11;17) (1%) t(5;17) (1%)	PLZF-RAR α NPM-RAR α
M4	Острый миеломоноцитарный лейкоз	20	11q23 (20%) inv(3q26)	MLL, DEK-CAN, EV11

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
M4эо	Острый миеломонобластный лейкоз с эозинофилией (5–30% эозинофилов в миелограмме)	5 – 10	t(3;3) (3%) inv16, t(16;16) (80%)	CBFβ-MYH11
M5a	Острый монобластный лейкоз без созревания	5 – 15	11q23 (20%)	MLL, MOZ-CBP
M5b	Острый монобластный лейкоз с созреванием		t(8;16) (2%)	-
M6	Острый эритромиелоз	3 – 5; при вторично м ОМЛ – до 20%	-	-
M7	Острый мегакариобластный лейкоз	3 – 12	t(1;22) (5%)	-

По мнению создателей ФАБ-классификации, при ОМЛ следует выделять три основных типа миелобластов (табл. 3) [Ананьева 2015, Рукавицына, Скворцов, Зенина 2009. 256 с].

Таблица 3

Характеристика бластных клеток

Бластные клетки	Характеристика
1	2
Тип I миелобластов	Округлое ядро, высокое ядерно-цитоплазматическое соотношение, нежная структура ядерного хроматина, содержат 2 – 4 четко определяемых ядрышка, цвет цитоплазмы от голубой до базофильной, без азурофильной зернистости.
Тип II миелобластов	Миелобласты II типа – это клетки, по цитоморфологическим признакам сходные с бластами I типа, с более низким ядерно-цитоплазматическим отношением, содержащие в цитоплазме до 20 нежно окрашенных азурофильных гранул. Промиелоциты большого размера, чем бласты II типа, и имеют большее число азурофильных гранул.
Тип III миелобластов	Миелобласты III типа содержат в цитоплазме многочисленные азурофильные гранулы, но в меньшем количестве, чем у промиелоцитов.

M2 – Острый миелобластный лейкоз с созреванием. ≥ 20% бластов. Бласты с округлой формой ядра, азурофильная зернистость в >10% бластов,

могут быть палочки Ауэра. $\geq 3\%$ бластов позитивны на МПО, СЧ, НЭ (не подавляется NaF). $\geq 10\%$ промиелоцитов и созревающих гранулоцитов. $<20\%$ моноцитов. Миелоидные антигены бластов позитивны 40 – 80% t(8;21) ассоциированы с CD19+. 20% oft(8;21) ассоциированы с Tdt+ (рис. 1.3, приложение 1).

М3 – Острый промиелоцитарный лейкоз. $\geq 20\%$ бластов. Бласты с выраженным полиморфизмом ядер, гипергранулярность, пучки палочек Ауэра. Интенсивные реакции МПО и СЧ. Промиелоциты и бласты с палочками. Хромосомные изменения t(15;17). Миелоидные антигены бластов позитивны. Промиелоциты негативны на HLA-DR (рис. 1.4, приложение 1).

Микрогранулярный (гипогранулярный) – М3. $\geq 20\%$ бластов. Бласты с выраженным полиморфизмом ядер, скудное количество гранул [Назаренко, Кишкун 2000. 350 с].

М4 – Острый миеломоноцитарный лейкоз. $\geq 20\%$ миелобластов, монобластов и промоноцитов. Бласты с округлой и моноцитоидной формами ядра, может быть пылевидная азурофильная зернистость. $\geq 80\%$ моноцитарных клеток в костном мозге. $\geq 5 \times 10^9/L$ моноцитарных клеток в периферической крови. $\geq 20\%$ гранулоцитов в костном мозге. Моноцитарные клетки позитивны на НЭ (подавляются NaF). Различные варианты бластов и моноцитарных клеток позитивны на CD13, CD14, CD15, CD33. Моноциты CD36 позитивны (рис. 1.5, приложение 1).

М4эо – Острый миеломонобластный лейкоз с эозинофилией. 5 – 30% эозинофилов в миелограмме. Ассоциированы с inv(16).

М5а – Острый монобластный лейкоз без созревания. $\geq 80\%$ моноцитарных клеток. Бласты с округлой и бобовидной формами ядра, без зернистости. Монобласты $\geq 80\%$ от моноцитарных клеток. Монобласты и промоноциты НЭ позитивны (подавляются NaF). Могут быть в 10 – 20% случаев НЭ негативны. Монобласты обычно МПО и СЧ негативны. CD13, CD14, CD15 и CD33 позитивны в различных вариантах. Монобласты CD36 и обычно CD4+ (рис. 1.6, приложение 1).

M5b – Острый монобластный лейкоз с созревaniem. $\geq 80\%$ моноцитарных клеток. Бласты с моноцитоидной формой ядер, может быть пылевидная азурофильная зернистость. Монобласты $< 80\%$ от моноцитарных клеток. Монобласты и промоноциты НЭ позитивны (подавляются NaF). Промоноциты имеют МПО и СЧ позитивные гранулы. CD13, CD14, CD15 CD33 позитивны в различных вариантах. Монобласты и промоноциты CD36+ (рис. 1.7, приложение 1).

M6 – Острый эритромиелоз. $\geq 50\%$ эритрокариоцитов. $\geq 20\%$ миелобластов от незэритроидных клеток. Бласты с округлой формой ядра, могут содержать палочки Ауэра. Дизэритропоэз. Эритрокариоциты ПАС позитивны. Миелоидные антигены в миелобластах. Эритрокариоциты экспрессируют гликофин А, гемоглобин А и CD36 (рис. 1.8., приложение 1).

M7 – Острый мегакариобластный лейкоз. $\geq 20\%$ бластов. Бласты с округлой формой ядра, резко базофильной цитоплазмой. Мегакариоциты экспрессируют миелоидный антиген CD33. Наличие на клетках антигенов гликопротеина Пб/Ша (CD41a) или гликопротеина Ша (CD61) (рис. 1.9, приложение 1) [Матвеева, Блиндарь 2013. 56 с].

В соответствии с ФАБ-классификацией различают три морфологических варианта ОЛЛ.

Классификация острых лимфоидных лейкозов

L1 – Мелкоклеточный мономорфный тип – мелкие одинаковые бластные клетки, единичные незаметные нуклеолы, правильное очертание ядра, частый вариант (рис. 1.10, приложение 1).

L2 – Крупноклеточный гетерогенный тип – крупные бласты, больше нуклеол разных размеров, неправильной формы, часто расщепленные ядра с отчетливыми ядрышками (рис. 1.11, приложение 1).

L3 – Беркитт-тип – большие одинаковые бласты, сильно выраженная базофильная цитоплазма с вакуолями, ассоциируется с В-клеточным

фенотипом (рис. 1.12, приложение 1) [Карпищенко 2014. 696 с., Кишкун 2010. 430 с., Острые и хронические лейкозы ...].

1.3.4. Лечение

Первичной целью лечения острых лейкозов является достижение полной ремиссии. Известно, что больные, достигшие ремиссии заболевания, живут значительно дольше тех больных, у которых ремиссии достичь не удастся. В настоящее время единственным методом лечения острого лейкоза, который позволяет достичь ремиссии, является цитостатическая полихимиотерапия. основополагающим принципом лечения острых лейкозов служит принцип интенсивности дозы цитостатиков, что подразумевает соблюдение не только точной дозировки цитостатиков, но и временного интервала их введения, которые рекомендованы программами лечения. Лечение острого лейкоза состоит из нескольких фаз. Первая фаза лечения имеет целью достижения ремиссии заболевания и называется индукционной. В дальнейшем, после достижения ремиссии проводится консолидирующая фаза лечения, состоящая из одного или нескольких курсов полихимиотерапии. Цель консолидирующего лечения – закрепление ремиссии, т. е. дальнейшая минимизация опухолевой массы.

Следующим этапом лечения является поддерживающая цитостатическая терапия, направленная на уничтожение остаточных опухолевых клеток, которые могут выходить в клеточный цикл и становиться чувствительными к цитостатикам. Последние фазы терапии (постиндукционная и постремиссионная терапии) не менее важны, чем индукция, в плане предотвращения рецидивов острого лейкоза. Так, помимо вышеперечисленных терминов, существуют такие понятия, как ранняя летальность и летальность в ремиссии заболевания. Ранняя летальность включает в себя: смерть больного до начала химиотерапии или смерть во время курса и до восстановления гемопоэза после индукционного курса химиотерапии. Летальность в ремиссии – смерть больного в связи с проводимыми постремиссионными курсами химиотерапии

или смерть больного, находящегося в ремиссии, от других причин [Гриншпун, Пивник с. 29, Сублейкемический лейкоз ...].

Не так сложно провести курс полихимиотерапии, как выходить больного после его завершения. Одним из проявлений гематологического искусства является ведение больных острым лейкозом в раннем постцитостатическом периоде (после индукционного и консолидирующего высокодозного курсов полихимиотерапии). Именно снижение «ранней летальности» приводит к увеличению количества больных, доживших до ремиссии острого лейкоза. Поэтому абсолютно необходимым и очень важным компонентом лечения острых лейкозов является сопроводительная терапия. Особенно важно соблюдение ее принципов на первом этапе лечения лейкоза – индукционной фазе. Это обусловлено распадом большой опухолевой массы во время первичного использования цитостатиков, что приводит к развитию жизненно опасных осложнений, связанных с лечением. Распад клеток приводит к значительному повышению мочевой кислоты в крови, уровень которой часто превышает норму до начала терапии. И это может послужить причиной развития острой почечной недостаточности вследствие уратной нефропатии. Продукты распадающихся клеток вызывают развитие бурной цитокиновой реакции, что проявляется развитием лабораторных и/или клинических признаков ДВС-синдрома, нарушением электролитного баланса, кислотно-щелочного состояния (КЩС), значительно реже развивается РДСВ. В постцитостатическом периоде почти у всех больных развивается агранулоцитоз (количество сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов менее 500 клеток в мкл периферической крови; некоторые авторы выделяют «тяжелый» агранулоцитоз, когда количество этих клеток менее 100 в мкл). На фоне агранулоцитоза происходит резкое угнетение специфического и неспецифического иммунитета, что делает больного беззащитным перед экзогенными и эндогенными микроорганизмами. Вследствие этого, а также вследствие нарушения барьерной функции кожи (инвазивные манипуляции, в первую очередь катетеризация вен) и слизистых оболочек полости рта и ЖКТ

(повреждение цитостатиками эпителиальных клеток) развивается синдром инфекционных осложнений (бактериальный сепсис, локализованная инфекция, неидентифицируемая инфекция – «фебрильная нейтропения»). В рамках постцитостатической панцитопении у больных отмечаются снижение, а также, как правило, тромбоцитопения тяжелой степени (снижение уровня тромбоцитов менее 20 тыс. в мкл), что приводит к развитию геморрагического синдрома [Гриншпун, Пивник с. 29-30].

Таким образом, основными принципами сопроводительной терапии острых лейкозов являются:

- гидратационная терапия под контролем водного, кислотно-щелочного и электролитного балансов с целью уменьшения опухолевой интоксикации, предупреждения синдрома лизиса опухолевой массы;

- профилактика уратной нефропатии (аллопуринол);

- деконтаминация ЖКТ (антибиотики: фторхинолоны, противогрибковые препараты, обработка слизистых антисептиками) для профилактики инфекционных осложнений, вызванных эндогенной микрофлорой;

- гемокомпетентная заместительная терапия (эритроцитарная масса, эритроцитарный концентрат, тромбоконцентрат, тромбомасса, свежезамороженная плазма) по показаниям для купирования анемического. Геморрагического синдромов. ДВС-синдрома;

- антиэметическая терапия (блокаторы серотониновых 5-НТ₃ рецепторов) для профилактики химио-индуцированной тошноты и рвоты;

- лечение развившихся инфекционных осложнений, при подозрении на них – раннее назначение системной антибактериальной терапии широкого спектра действия в максимальных дозах;

- другая симптоматическая терапия – коррекция электролитных нарушений, КЩС, купирование болевых синдромов. Улучшение почечной перфузии, терапия неотложных состояний (ИВЛ при развитии РДСВ, инотропная поддержка при шоках, гемодиализ при развитии ОПН);

- Проведение лейкоферезов (бластоферезов) при крайне высоком лейкоцитозе и признаках лейкостаза.

Для проведения индукционной химиотерапии, высокодозной консолидирующей химиотерапии и сопроводительной терапии крайне желательна катеризация центральной вены для обеспечения адекватного сосудистого доступа [Гриншпун, Пивник с. 30-31].

Лечение острых миелобластных лейкозов

Основная терапия

Даунорубицин и цитарабин является основными цитостатиками в индукционных курсах лечения ОМЛ.

Обычно Даунорубицин назначается в дозе 40 – 60 мг/м² тела больного в сутки в течение трех последовательных дней.

В большинстве индукционных режимов цитарабин применяется в дозе 100 – 200 мг/м² в виде болюсной инфузии каждые 12 часов или в виде продолжительной суточной инфузии. В обоих случаях цитарабин используется в течение 7 – 10 последующих дней. Совокупность вышеуказанных препаратов представляет собой программу «7+3».

Лечение острого промиелоцитарного лейкоза (ФАБ-Мз) включает в программу индукционной терапии полностью трансретиноевую кислоту (all-transretinoic acid, АТРА, третиноин, весаноид) в дозе 45 мг/м²/сут.

После достижения больным полной ремиссии проводится консолидирующая полихимиотерапия. Проводятся 2 – 4 курса полихимиотерапии, либо аналогичных индукционному, либо, если позволяют возраст больного и общесоматический статус, интенсифицированные (высокодозные) курсы.

Поддерживающая терапия продолжается до трех лет от момента достижения ремиссии. Она позволяет проводить дальнейшую редукцию опухолевой массы и снижать риск рецидива [Высоцкая, Гусева с. 34-35].

В 2019 было проведено клиническое исследование и опубликовано в статье научного журнала "Blood", В ней говорится о том, что пожилые пациенты с острым миелоидным лейкозом, средний возраст которых составлял 74 года, плохо реагируют на стандартную индукционную терапию. Так как сверх экспрессия В - клеточной лимфомы 2 (BCL-2) влияет на выживаемость клеток острого миелоидного лейкоза и устойчивость к лечению. Таким образом было проведено исследование по увеличению дозы Венетоклакса с Децитабином или Азацитидином и расширению фазы 1b. Новая комбинация Венетоклакса с Децитабином или Азацитидином была эффективной и хорошо переносилась у пожилых пациентов с острым миелоидным лейкозом [Venetoclax combined ... 2019].

Следующая статья так же про схемы лечения. Мутации IDH2 продуцируют онкометаболит, 2-гидроксиглутарат (2-HG), который приводит к гиперметилированию ДНК и гистонов и нарушению гематопоетической дифференцировки. Эназидениб является пероральным ингибитором мутантных белков-IDH2. В этом исследовании оценивали дозы Эназидениба от 50 до 650 мг / сут, вводимые в непрерывных 28-дневных циклах, у пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями мутанта-IDH2. 214 из 345 пациентов (62%) с рецидивирующим или рефрактерным острым миелоидным лейкозом получали эназидениб, 100 мг/сут. Средний возраст составлял 68 лет. Сорок два пациента (19,6%) достигли полной ремиссии, 19 пациентов (10,3%) перенесли аллогенную трансплантацию костного мозга, и общий показатель ответа составил 38,8%. В результате Эназидениб хорошо переносился и вызывал молекулярные ремиссии и гематологические реакции у пациентов с острым миелоидным лейкозом, у которых предшествующее лечение было неудачным [Molecularre mission ... 2019].

Далее поговорим о секвенировании. Наши знания о генетике миелодиспластических синдромов (МДС) и связанных с ними миелоидных расстройств значительно улучшились за последнее десятилетие, в котором революционные технологии секвенирования сыграли важную роль. Благодаря

интенсивным усилиям по секвенированию большого количества геномов MDS был выявлен всеобъемлющий реестр мутаций драйверов, постоянно обнаруживаемых в узнаваемой части пациентов с миелодиспластическим синдромом, и предпринимаются постоянные усилия для выяснения их влияния на клинический фенотип и прогноз, а также как их роль в патогенезе миелодиспластических синдромов. Среди основных мутационных мишеней в MDS находятся молекулы, участвующие в метилировании ДНК, модификации хроматина, сплайсинге РНК, транскрипции, передаче сигнала, регуляции когезина и репарации ДНК. Демонстрируя существенное совпадение с мутациями, наблюдаемыми при остром миелобластном лейкозе (ОМЛ), а также с возрастным клональным кроветворением у здоровых людей, предполагается, что эти мутации имеют общее клональное происхождение. Считается, что мутации приобретаются и хорошо выбираются хорошо организованным образом, чтобы позволить расширение иницирующего клона для нарушения нормального кроветворения, что в конечном итоге приводит к возникновению миелодиспластических синдромов (MDS) и последующей трансформации в острый миелобластный лейкоз (AML) у многих пациентов. Значительные корреляции между мутациями предполагают наличие функциональных взаимодействий между мутациями, которые диктуют прогрессирование заболевания. Мутации часто связаны с определенным фенотипом заболевания, лекарственной реакцией и клиническими исходами, и, следовательно, важно знать генетику MDS для лучшего ведения пациентов [Ogawa S. 2019].

Не мало важным, и даже значимым этапом в лечении пациента, является профилактика рецидивов. Это основная терапевтическая проблема у пожилых пациентов с острым миелоидным лейкозом (ОМЛ), которые получили полную ремиссию после интенсивной химиотерапии. В этом рандомизированном исследовании фазы 3 (HOVON97) у пожилых пациентов (≥ 60 лет) с ОМЛ или миелодиспластическим синдромом с рефрактерной анемией с избытком бластов, в CR / CR с неполным гематологическим восстановлением (CRi) после по крайней мере 2 циклов интенсивной химиотерапии, было оценено значение

Азацитидина в качестве терапии после ремиссии с точки зрения выживаемости без заболеваний (DFS - первичная конечная точка) и общей выживаемости (ОС - вторичная конечная точка). Поддерживающее лечение Азацитидином было осуществимо. Первичная конечная точка была значительно лучше в группе лечения Азацитидином (логранк), а также после корректировки на цитогенетические аномалии низкого риска при диагностике и подсчете тромбоцитов при рандомизации. 12-месячный DFS был оценен в 64% для группы Азацитидина и 42% для контрольной группы. Вторичная конечная точка не различалась между группами лечения, с и без цензуры для аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток. Спасательное лечение использовалось чаще в группе наблюдения (n=32), чем в группе Азацитидиновой поддержки (n=9). Таким образом пришли к выводу, что поддержание Азацитидина после интенсивной химиотерапии возможно и значительно улучшает первичную конечную точку [Azacitidine maintenance after ... 2019].

Лечение острых лимфобластных лейкозов

Основная терапия

Терапия ОЛЛ включает индукцию ремиссии, ее консолидацию, поддерживающую терапию в ремиссии и лечение и профилактику поражения головного мозга и его оболочек (нейролейкемии). Индукционная полихимиотерапия (первая фаза) включает комбинацию винкристина, преднизолона и антракциклинов (как правило, даунорубицина).

Профилактика нейролейкемии состоит из комбинации краниального облучения (курсовая доза 24 Грея в 12 фракциях за две недели) и интратекального введения цитостатиков (метотрексат с или без введения цитарабина и преднизолона).

Консолидирующая терапия позволяет уменьшить остаточную опухолевую массу, снизить риск развития рецидива и развития резистентности опухолевых клеток к цитостатикам. Этот этап состоит из альтернирующих

циклов химиотерапии с включением других, по сравнению с индукцией, цитостатиков. Обычно эта фаза представлена одним или двумя курсами «интенсификации», в которых комбинируются большие дозы метотрексата, цитарабина, а также этопозид и антрациклины (митоксантрон, идарубицин).

Поддерживающая фаза лечения необходима всем больным, которым не выполняется трансплантация гемопоэтических клеток. Поддерживающая терапия продолжается 2 – 3 года от момента достижения ремиссии и состоит из ежедневного приема 6-меркаптопурина и еженедельного введения метотрексата. При этом циклически вводятся внутривенно винкристин и интратекально метотрексат.

У больных острыми лейкозами моложе 50 лет и имеющих HLA-совместимых сиблингов, должен обсуждаться вопрос о проведении аллогенной трансплантации стволовых гемопоэтических клеток крови или костного мозга. Это зависит от риска развития рецидива заболевания.

Повышение количества бластов в костном мозге или появление их в крови, иные симптомы рецидива Лейкозы требуют срочного возобновления интенсивной полихимиотерапии [Гриншпун, Пивник с. 31-32, Козинец, Погорелов с. 18-21, Стренева, Хомченский 240 с].

В апреле 2019 года проведенные ретроспективные исследования показали, что подростки и взрослые в возрасте от 17 до 39 лет, с острым лимфобластным лейкозом (ALL) имеют лучшую выживаемость при лечении с использованием схемы острого лимфобластного лейкоза для детей, назначаемой педиатрическими группами лечения. Были рассмотрены возможность и эффективность использования педиатрического режима лечения для пациентов с недавно диагностированным острым лимфобластным лейкозом, введенного взрослыми группами лечения, было проведено перспективное исследование, CALGB 10403, с дозами и графиком, идентичными тем, что были в исследовании детской онкологической группы AALL0232. Факторы риска перед лечением, связанные с худшими результатами лечения, включали ожирение и наличие филадельфийской генной

экспрессии. Использование педиатрического режима для взрослых пациентов с острым лимфобластным лейкозом в возрасте до 40 лет было осуществимо и эффективно, что привело к улучшению показателей выживаемости по сравнению с историческим контролем. Таким образом, CALGB 10403 можно считать новым стандартом лечения, на основе которого строится улучшение выживаемости для взрослых пациентов с острым лимфобластным лейкозом [A pediatric regimen ... 2019].

Удивительным и интересным фактом является то, что положительным результатом лечения явилась лучевая терапия (RT). Она может быть излечивающей для пациентов с локализованной фолликулярной лимфомой (FL), так как исторический ряд показал 10-летнюю безрецидивную выживаемость от 40 до 50%. Позитронно-эмиссионная томография 18F-фтордезоксиглюкозы (18F-FDG) с компьютерной томографией (ПЭТ-КТ) повышает эффективность от 10 до 60% пациентов по сравнению с КТ. Было проведено многоцентровое ретроспективное исследование под руководством международной группы по радиационной онкологии лимфомы. Результат после проведенной терапии у пациентов на стадии Позитронно-эмиссионной томографии с компьютерной томографией (ПЭТ-КТ), лучше, чем в более ранних сериях, особенно на стадии I, это позволяет предположить, что лечебный потенциал для пациентов с действительно локализованной фолликулярной лимфомой ранее был недооценен [Definitive radiotherapy ... 2019].

В марте 2019 года Итальянские ученые провели исследование. Рецидив исходного заболевания является основной причиной смерти после аллогенной трансплантации гемопоэтических клеток при острых лейкозах. Появляется все больше доказательств того, что рецидивы могут быть объяснены не только резистентностью к химиотерапии, но также и выходом опухолевых клеток из-под контроля аллогенного иммунного ответа. Механизмы уклонения от иммунитета могут включать в себя отмену распознавания лейкозных клеток из-за потери генов HLA, иммуносупрессии посредством экспрессии лигандов

контрольно-пропускного пункта, продукции противовоспалительных факторов, высвобождения метаболически активных ферментов, потери продукции провоспалительных цитокинов и приобретения нового драйвера мутации, способствующие росту лейкемии. Эти механизмы и терапевтическое воздействие на иммунный побег будут обсуждаться. Многие разделяют доказательства в поддержку механизмов выхода из иммунной системы в исследованиях на животных, лабораторные исследования на людях и клинический опыт человека. Лучшее понимание молекулярных путей, связанных с побегом и рецидивом иммунитета, может помочь улучшить терапевтический арсенал против острой миелоидной лейкемии, который мы рассматривали ранее [Zeiser R., Vago L. 2019].

Все мы знаем, что острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у детей. Наиболее подвержены этому заболеванию Латиноамериканцы. Характеризуются это тем, что у них высокий уровень предков американских индейцев, и они диспропорционально страдают от этого рака с высокой частотой и низкой выживаемостью. Тем не менее, генетическая основа этого несоответствия остается недостаточно понятной из-за нехватки общегеномного исследования острого лимфобластного лейкоза (ALL) у латиноамериканцев. Выполняя исследование по геномной ассоциации (GWAS) у 940 детей латиноамериканского происхождения с ALL и 681 сопоставимым по наследству не-ALL контролем, был идентифицирован новый локус чувствительности в гене ERG. Анализы импутации указали на один причинный вариант, управляющий сигналом ассоциации в этом локусе, перекрывающийся с предполагаемыми регуляторными элементами ДНК. Величина эффекта варианта риска ERG возрастала с увеличением генетического происхождения индейцев. Генотип риска ERG был недостаточно представлен во BCEX слиянием ETV6-RUNX1 ($P < .0005$), но обогащен подтипом TCF3-PBX1 ($P < .05$). Интересно, что во всех случаях с аллелями риска зародышевой линии ERG вероятность соматической делеции ERG была значительно ниже ($P < .05$).

поэтому полученные результаты дают новое понимание о генетической предрасположенности и расовое неравенство при этом заболевании [Novel susceptibility variants ... 2019].

Заболевание трансплантат против хозяина (GVHD) остается одним из основных осложнений после аллогенной трансплантации костного мозга (алло-ВМТ). Сиртуин-1 (Sirt-1) играет решающую роль в различных биологических процессах, включая клеточное старение, метаболизм и воспалительные реакции. Деацетилирование Sirt-1 регулирует различные факторы транскрипции, которые важны для модуляции иммунных реакций. В настоящем исследовании рассмотрели роль Sirt-1 в индукции GVHD, используя условно-нокаутных мышей Sirt-1, а также фармакологический ингибитор Sirt-1. Используя основные модели мышинового ВМТ, сопоставимого с основным комплексом гистосовместимости (МНС), было обнаружено, что Т-клетки Sirt-12/2 обладают пониженной способностью индуцировать острую GVHD (aGVHD) посредством усиленного ацетилирования p53. Т-клетки с дефицитом sirt-1 также стимулировали индуцированную дифференцировку регуляторных Т-клеток (iTreg) и ингибировали продукцию интерферона- γ после алло-ВМТ. Удаление Sirt-1 в iTregs увеличивало стабильность Foxp3 и сдерживало превращение iTreg в патогенные Т-клетки. Кроме того, было обнаружено, что введение ингибитора Sirt-1, Ex-527, значительно улучшило выживаемость реципиента и клинические показатели без признаков рецидива опухоли. Эти результаты показывают, что ингибирование Sirt-1 может ослабить реакцию отторжения (РТПХ), сохраняя при этом эффект трансплантат против лейкемии. Соответственно, Т-клетки с дефицитом Sirt-1 также демонстрируют заметно сниженную способность индуцировать хроническую GVHD (cGVHD). Механистические исследования показали, что дефицит Sirt-1 в Т-клетках усиливает восстановление В-клеток селезенки и уменьшает развитие фолликулярных Т-хелперов. Дефицит Sirt-1 в Т-клетках модулировал ответы донорных В-клеток, снижая как активацию В-клеток, так и дифференцировку плазматических клеток. Кроме того, терапевтическое ингибирование Sirt-1

может как предотвратить сGVHD, так и уменьшить установленное сGVHD [Цой, Пак 196 с].

В заключение, Sirt-1 является многообещающей терапевтической мишенью для контроля патогенеза aGVHD и сGVHD и обладает высоким потенциалом для клинического применения. [Targeting Sirt-1 controls ... 2019].

Таким образом, можно сделать вывод, о том, что медицина не стоит на месте и постоянно развивается, находя все новые и эффективные методы лечения и профилактики заболеваний.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на базе клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ ТО «Областная клиническая больница №1» г. Тюмени, в период 2007-2016 гг. Нами было обследовано 97 детей, болеющих ОЛЛ, в возрасте от 1 года до 16 лет и проживающих в Тюмени и на юге Тюменской области. Все дети были разделены на группы по полу и возрасту:

I - девочки от 1 до 7 лет, n=28

II - мальчики от 1 до 7 лет, n=40

III- девочки от 8 до 16 лет, n=9

IV- мальчики от 8 до 16 лет, n=20

Материалами исследования являлись кровь и костный мозг, обследуемых пациентов. Забор материала проводился в процедурном кабинете в утренние часы с восьми до 12.00 часов, строго натощак, после чего биоматериал доставлялся в клинико–диагностическую лабораторию.

Для клинического исследований была использована венозная кровь пациентов. При взятии крови строго соблюдались правила санэпидрежима – асептики и антисептики в соответствии с действующими нормативными документами. Взятие крови проводилось в резиновых или одноразовых перчатках, маске и колпаке; в тех случаях, когда это невозможно, перед каждым взятием перчатки обрабатывались 70% спиртом. Все оборудование для взятия крови, включая одноразовые системы, шприцы, иглы, бинты, ватные и марлевые тампоны, пластыри были стерильными. Для проведения забора венозной крови соблюдались следующие условия подготовки пациентов:

- если пациент принимает лекарства, желательно сделать перед процедурой перерыв в две недели. Если это условие выполнить сложно, необходимо хотя бы предупредить врача о том, какие принимаются препараты;
- не следует принимать жирную пищу за два дня до обследования;

- взятие венозной крови осуществлялось после 30-минутного отдыха обследуемого;
- в случае проведения других исследований приборами или при помощи инструментов, рекомендуется сделать перед проверкой крови паузу на пару дней;
- курение и прием алкоголя непосредственно перед исследованием исключалось;
- пациент во время взятия крови сидел, у тяжелых больных взятие крови производилось в положении лежа.

Венозную кровь, как правило, забирали из локтевой вены. В случае необходимости ее можно получить из любой вены (запястья, тыла ладони, подключичной и др.). При взятии крови из вены избегали: мест шрамов, гематом; вен, используемых для переливания растворов.

Для венепункции использовались три варианта пункционных систем: 1) одноразовые пластмассовые системы (контейнеры), состоящие из контейнера с навинчивающейся на него одноразовой иглой и пробирки с плотно прилегающей пробкой и вакуумом внутри; 2) одноразовые шприцы с достаточным объемом и подходящим диаметром иглы; 3) иглы с внутренним диаметром 0,55 - 0,65 мм.

Для анализа костный мозг чаще берут из грудины (стернальная пункция) или из гребней подвздошных костей. Реже делают прокол в одном из остистых отростков поясничных позвонков.

При выполнении пункции больной лежит на спине. При выполнении стернальной пункции делают прокол грудины полой иглой на уровне третьего ребра. Игла для пункции костного мозга снабжена фиксирующим диском, который предотвращает изменение выбранной глубины прокола. После прокола кожи и кости с помощью шприца делают забор костного мозга. Для обезболивания больному под кожу и под надкостницу вводят местный анестетик. После процедуры иглу вынимают, а на место прокола накладывают

повязку. Пунктат наносят на специальное предметное стекло и делают микроскопический анализ мазков.

Самый распространенный и традиционный анализ крови, который называется общий или клинический способен определить лейкоз. Поэтому часто обнаруживается болезнь при прохождении профилактического обследования. Анализ берут в пробирку с антикоагулянтом (цитратом Na).

Биохимический анализ проводится, если есть подозрение на онкологию. Анализ берут в сухую пробирку, без антикоагулянта. Он помогает уточнить вид лейкоза и насколько далеко зашел процесс.

Биопсия костного мозга. Анализ проводится для подтверждения диагноза. Биоптат костного мозга берут из тела грудины у больного и доставляют в клинико-диагностическую лабораторию. Окрашивают по Романовскому и через микроскоп смотрят изменение клеток костного мозга.

В ходе исследования определялись следующие показатели:

Клинические: число лейкоцитов, лейкограмма и СОЭ.

Биопсия костного мозга - изменение клеток костного мозга и наличие метастазов в нем.

Цитохимические показатели: на МПО и Шик-реакция [Хейфец с.71-75].

2.2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.2.1. Клиническое исследование крови

Клиническое исследование цельной крови проводилось с использованием анализатора «Sysmex XS-1000i», Япония (показатели: изменение количества и состава лейкоцитов) (рис 2.1).

Принцип действия анализатора основан на использовании в нем технологии флуоресцентной проточной цитометрии, обеспечивающей высочайшее качество во всех аспектах.

Полная дифференциация всех популяций лейкоцитов – 5 DIFF (способность дифференцировать лейкоциты на 5 популяций), определение эритроцитов и тромбоцитов с помощью гидродинамической фокусировки. Анализатор имеет выделенный канал для определения гемоглобина.

Обеспечивает аспирацию в закрытом режиме для отдельных пробирок или имеется в наличии с дополнительным пробоотборником. Аспирируемый объем, составляющий всего 20 мкл. Представляет подробные, достоверные и высококачественные результаты.

Производительность 60 образцов в час. Объем памяти на 10 000 пациентов, включая графики и скаттерограммы.

Нормальные показатели крови здорового ребенка: лейкоцитов – $4,5 - 12 \times 10^9/\text{л}$ (п/я – 0,5 – 5%, с/я – 25 – 65%, э – 0,5 – 7%, б – 0 – 1%, л – 26 – 60%, м – 2 – 10%), СОЭ – 4 – 12 мм/ч [Песоцкая с. 101-107].

Для удобства и экономии времени предназначена автоматическая система для окраски гематологических мазков «Hematek Slide Stainer», США (рис. 2.2).

Принцип действия покрасочной машины заключается в покраске гематологических мазков. Производительность – 60 стекол в час. Точная и корректная работа прибора отменяет необходимость в дублировании гематологических препаратов, экономит время и реагенты. Автоподача стекол позволяет освободить рабочее место оператора и сделать процесс окраски стекол непрерывным. Наличие датчика уровня растворов позволяет заранее предупредить возможные сбои и ошибки, связанные с их недостаточностью.

Точная дозировка реагентов, всегда свежая краска для каждого стекла.

Краситель и буфер смешиваются и равномерно распределяются по стеклу. Стандартная окраска элементов от стекла к стеклу, от поля к полю. Видовая вариация интенсивности окраски соответствует потребностям визуальных гематологических исследований (окраска по Романовскому-Гимзе).

Далее гематологические мазки смотрят под микроскопом (рис. 2.3) и дифференцируют лейкоциты на популяции.

2.2.2. Биопсия костного мозга

Биопсия костного мозга. Анализ проводится для подтверждения диагноза. Биоптат костного мозга берут из грудины у больного и доставляют в клиничко-диагностическую лабораторию. Окрашивают по Романовскому и через микроскоп смотрят изменение клеток костного мозга.

Биопсия костного мозга - изменение клеток костного мозга и наличие метастаз в нем.

Процентное соотношение различных клеточных элементов в миелограмме составляет в норме: лимфоцитов - 4,3 - 13,7%, моноцитов - 0,7 - 3,1%, плазматических клеток - 0,1 - 1,8%.

2.2.3. Определение некоторых цитохимических показателей

Миелопероксидаза - фермент, локализующийся преимущественно в специфической зернистости цитоплазмы гранулоцитов и являющийся маркером клеток миелоидной природы.

В присутствии пероксидазы бензидин окисляется перекисью водорода в коричневый оксибензидин.

Свежие мазки фиксировали 4 % формалиново-спиртовым раствором в течение 30 секунд. Обмывали в проточной воде и высушивали. Заливали реактивом на пероксидазу (4,0 Н₂О дистилл., 6,0 96-% спирта, 0,02 3-% перекиси водорода, щепотка бензидина) на 5 минут. Тщательно промывали в проточной воде и подсушивали. Окрашивали красителем Романовского-Гимзы.

Гликоген - локализуется в цитоплазме клеток и играет важную роль в энергетическом метаболизме клеток [Меньшикова 364 с].

Под влиянием периодата калия гликоген окисляется с образованием альдегидных соединений, легко реагирующих с реактивом Шиффа.

Препарат фиксировали 10 минут смесью 1 мл 40% формалина и 3 мл абсолютного спирта. Промывали проточной водой, просушивали. Помещали в 1-% раствор йодной кислоты на 20 минут. Промывали проточной водой,

просушивали. Погружали в раствор Шиффа на 30 минут. Промывали проточной водой 5 минут. Красили гематоксилином Карацци 10 минут. Промывали проточной водой.

2.2.4. Метод подсчёта лейкоцитарных индексов

Все индексы по классификации Овсянниковой (2007) [Жуков А. П., с.110] делятся на:

1. Индексы эндогенной интоксикации – ЛИИ, ИСЛК, Индекс Кребса, РОИ.
2. Индексы неспецифической реактивности организма – ИРО, ЛИ.
3. Индексы активности воспаления – ИЛСОЭ, ИЛГ.

Индекс Кребса (ИК) — это отношение всей суммы процентного содержания нейтрофилов к такому же количеству лимфоцитов. Норма = $1,8 \pm 0,46$.

Данный индекс не отображает всех элементов лейкоцитарной формулы, хотя по данным некоторых авторов объективно отображает степень интоксикации. При воспалительном процессе с легкой ЭИ равен $2,8 \pm 0,4$, при средней тяжести ЭИ — $4,86 \pm 0,97$, при тяжелой степени ЭИ — более $5,76 \pm 1,19$. При неэффективности проводимой терапии ИК оставался на высоких цифрах на протяжении 5–7 дней [Сипливый В. А., с. 22].

Лейкоцитарный индекс (ЛИ) (2.1) -отношение лимфоцитов к нейтрофилам (миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные), отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы. Норма = $0,41 \pm 0,03$.

$$ЛИ = \frac{Лф}{Н} \quad (2.1)$$

где Лф - лимфоциты, Н – нейтрофилы.

Формула Я.Я. Кальф-Калифа позволяет определять лейкоцитарный индекс интоксикации ЛИИ является показателем некротического процесса в тканях и эндогенной интоксикации. Формула представляет собой соотношение уровня клеток, при повышении воспалительного и гнойного процесса, к клеткам, у которых при этих процессах может снижаться количество клеток.

Индекс отражает количественный сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону нейтрофилов, но обычно на практике сам сдвиг оценивается врачами приблизительно и лишь констатирует факт, без количественной характеристики.

Формула Кальф-Калифа Я.Я. была разработана в 1941 году. Она выглядит следующим образом (2.2):

$$\text{ЛИИ} = \frac{(4\text{Мц} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) * (\text{Пл} + 1)}{(\text{М} + \text{Лф}) * (\text{Э} + 1)} \quad (2.2)$$

где Мц - миелоциты, Ю- метамиелоциты, П - палочкоядерные нейтрофилы, С - сегментоядерные нейтрофилы, Пл- плазматические клетки, М - моноциты, Лф - лимфоциты, Э - эозинофилы.

Индекс резистентности организма (ИРО), был предложен как модификация, так как один из ключевых его компонентов ЛИИ.

Рассчитывается как отношение количества лейкоцитов в тыс./л к произведению возраста больного на ЛИИ по Я.Я. Кальф-Калифу (2.3):

$$\text{ИРО} = \frac{\text{лейк., тыс./л.}}{\text{возраст больного} * \text{ЛИИ}} \quad (2.3)$$

Этот индекс наиболее достоверен и нашел наибольшее применение в клинической практике, так как включает соотношение количества всех

представителей лейкоцитарной формулы, без включения дополнительных коэффициентов, что адекватно отражает сущность происходящих процессов. Норма показателя ЛИИ находится в пределах от $1,0 \pm 0,5$ до $1,6 \pm 0,5$.

Снижение ИРО указывает на возможность развития инфекционного процесса, а при стойком увеличении его с 3 до 5 суток, указывает на отсутствие процесса воспаления.

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) - это отношение суммы гранулоцитов к сумме моноцитов и лимфоцитов, расчет по формуле (2.4):

$$\text{ИСЛК} = \frac{\text{Э} + \text{Б} + \text{Н}}{\text{М} + \text{Лф}} \quad (2.4)$$

где Н – нейтрофилы, Лф – лимфоциты, М – моноциты, Э – эозинофилы, Б – базофилы.

В норме ИСЛК составляет $1,96 \pm 0,56$, его особенность состоит в независимости от общего числа лейкоцитов крови. Рост данного индекса говорит об активном воспалительном процессе и существующем дисбалансе в иммунологической реактивности.

РОН является доступным, достаточно информативным, более чувствительным и менее подверженным погрешностям индексом, чем ЛИИ, позволяет на основании оценки общего состояния больного, инструментальных и лабораторных показателей правильно выбрать и своевременно скорректировать тактику лечения.

Реактивный ответ нейтрофилов (РОН) является модификацией ЛИИ и равен произведению суммы миелоцитов и юных на палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы, поделенному на произведение суммы лимфоцитов, базофилов и моноцитов на процент эозинофилов. Рассчитывается по формуле (2.5):

$$POH = \frac{(Mц. + Ю + 1) * П * С}{(Лф + Б + М) + Э} \quad (2.5)$$

где, Мц – миелоциты, Ю – метамиелоциты, П - палочкоядерные нейтрофилы, С – сегментоядерные нейтрофилы, лф – лимфоциты, б – базофилы, мон – моноциты, э – эозинофилы.

Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ). По данному индексу можно судить о наличии интоксикации, связанной с инфекционным (снижением индекса) или аутоиммунным (повышением индекса) процессом. Норм = $1,87 \pm 0,76$. Рассчитывается по формуле (2.6):

$$ИЛСОЭ = \frac{Л * СОЭ}{100} \quad (2.6)$$

Лимфоцитарно – гранулоцитарный индекс (ИЛГ) позволяет дифференцировать аутоинтоксикацию и инфекционную интоксикацию. Норма = $4,56 \pm 0,37$. Рассчитывается по формуле (2.7):

$$ИЛГ = \frac{Лф * 10}{Мц + Ю + П + С + Э + Б} \quad (2.7)$$

где, Мц – миелоциты, Ю – метамиелоциты, П- палочкоядерные нейтрофилы, С – сегментоядерные нейтрофилы, Лф – лимфоциты, Б – базофилы, Э – эозинофилы [Сипливый В. А., с. 22].

2.2.5. Метод статистической обработки результатов исследования

Метод статистической обработки результатов - математические приемы, формулы, способы количественных расчетов, с помощью которых показатели, получаемые в ходе эксперимента, можно обобщать, приводить в систему, выявляя скрытые в них закономерности, которые существуют между изучаемыми в эксперименте переменными величинами.

С помощью метода статистической обработки можно получить показатели, непосредственно отражающие результаты производимых в эксперименте измерений, которые применяются в самих психодиагностических методиках и являются итогом начальной статистической обработки результатов психодиагностики.

К статистической обработке относят, определение выборочной средней величины, выборочной дисперсии, выборочной моды и выборочной медианы.

Методы вычисления элементарных математических статистик:

Мода - количественное значение исследуемого признака, наиболее часто встречающееся в выборке.

Медиана - значение изучаемого признака, которое делит выборку, упорядоченную по величине данного признака, пополам.

Выборочное среднее значение как статистический показатель представляет собой среднюю оценку изучаемого в эксперименте психологического качества.

Разброс выборки обозначается буквой R - разность между максимальной и минимальной величинами данного конкретного вариационного ряда.

Дисперсия - это среднее арифметическое квадратов отклонений значений переменной от её среднего значения [Методы статистической обработки ...].

Полученные результаты были обработаны на ЭВМ Pentium по программе «Stat», с использованием электронных таблиц Microsoft Excel 2010. В ходе исследования определяли следующие параметры:

- а) среднюю арифметическую - M ;
- б) ошибку средней арифметической $-m$.

О достоверности различий судили по t - критерию Стьюдента с определением уровня значимости P по таблицам [Лакин Г.Ф., с. 307].

Достоверными считали различия при уровне значимости * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Заболеваемость лейкозом широко распространена в человеческом обществе. В России ежегодная заболеваемость в среднем составляет 2-4 случая на 100 000 населения. В г. Тюмени и Тюменской области эпидемическая ситуация по лейкозам оценивается, как не очень благоприятная. В 2007 году показатель распространенности на 100 000 населения составил 0,5 (18 чел.). В 2008 году был зарегистрирован резкий скачок заболеваемости, который составил 0,9 (31 чел.). В 2009 году произошло небольшое снижение показателя заболеваемости до 0,8 (27 чел.). В 2010 году показатель заметно поднялся до отметки 1,8 (61 чел.). С 2011 – 2014 гг. показатель постепенно снизился, и достиг отметки 1,3 (46 чел.). В 2015 году показатель снова заметно увеличился до 1,8 (63 чел.) и в 2016 году остается примерно на том же уровне только немного снижен 1,6 (59 чел.) (рис. 3.1.) [Методы статистической обработки ...].

Заболеваемость лейкозом неодинакова в различных возрастных группах. Ежегодная средняя частота возникновения острых лейкозов составляет 2-4 случая на 100 000 населения, при этом с возрастом частота заболевания прогрессивно увеличивается, острые лимфобластные лейкозы чаще встречаются в детском и юношеском возрасте (табл. 4).

Рассматривая распределение заболевания лейкозом по половому признаку за десятилетний период можно лишь отметить, что количество пациентов мужского пола больных ОЛЛ превышает количество пациентов женского пола на 30% (рис. 3.2.).

Дальнейшие наши исследования показали, что у детей страдающих ОЛЛ происходило смещение лейкоцитарной формулы в сторону лимфоцитарного ростка с выходом в периферическую кровь бластных элементов, что свидетельствовало об ускоренной пролиферации и выходе данных клеток в кровяное русло. Число бластных клеток было достоверно выше у девочек I группы по сравнению с их сверстниками. При этом нами было отмечено

уменьшение количества моноцитов и эозинофилов во всех возрастных группах больных детей (I, II, III, IV).

Также видно, что число сегментоядерных нейтрофилов находилось на нижней границе физиологической нормы, а число лейкоцитов в периферической крови находилось в пределах нормальных значений или было несколько снижено. Нами было зарегистрировано, также, что уровень лейкоцитов был достоверно выше ($P < 0,01$) у мальчиков IV группы по сравнению с их сверстниками и достоверно выше у тех же мальчиков по сравнению с мальчиками II группы ($P < 0,001$) (табл. 5).

Снижение количества лейкоцитов мы связывали с применением цитостатиков в проводимом лечении у детей, больных острым лимфобластным лейкозом.

Результаты некоторых исследований выявили, что апоптоз зрелых лейкоцитов является важным механизмом лейкопении, вызванной химиотерапией [Владимирская, Казначеев с. 3-10, Владимирская, Осипова с. 5-7, Чухловин с. 384-386].

Уменьшение количества моноцитов относительно нормальных величин мы также связывали с проведением у детей программой химиотерапии.

Увеличение у этих больных количества моноцитов можно считать предвестником восстановления нормального гемопоэза, признаком эффективности лечения [Дульцин, Кассирский, Раушенбах с 432, Песоцкая с. 101-107].

При выделении различных форм и вариантов ОЛ в настоящее время руководствуются морфологическими, цитохимическими и иммунологическими характеристиками бластных клеток.

При морфологической характеристике бластных клеток эффективность в выделении форм и вариантов ОЛ у разных групп исследователей составляет 63%; если дополнительно используются цитохимические методы идентификации клеток, то число совпавших результатов увеличивается до 89%.

Таким образом, для подтверждения лимфоидного варианта ОЛ нами были использованы следующие цитохимические реакции: на гликоген, миелопероксидазу.

В результате нашего исследования было обнаружено полное отсутствие в лейкозных клетках фермента миелопероксидазы, что определило их как популяцию лимфоидных клеток (табл. 6).

Интенсивная ШИК-реакция в виде гранул, располагающихся по периметру клетки, также подтверждает принадлежность лейкозных клеток к лимфоидным [Кисляк, Ленская, 175 с.].

Резкое усиление гранулярной ШИК-реакции при лимфолейкозе, вероятно, происходит в результате метаболического блока в обмене углеводов вследствие опухолевой трансформации клеток [Хейфец с.71-75].

При оценке состояния гемопоэза важное значение имеют и количественная, и качественная характеристики клеток костного мозга [Алексеева]. Исследование костного мозга проводят с диагностической целью для подтверждения или установления диагноза [Меньшикова. 364 с].

Анализ результатов нашего исследования показал, что у детей, страдающих ОЛЛ в миелограмме было обнаружено увеличение количества бластных элементов, преимущественно у мальчиков разных возрастных групп (II, IV). Увеличение бластных клеток сопровождалось появлением в миелограмме полиморфных форм с атипией ядер, крупными нуклеолами, что характерно для ОЛ.

Было обнаружено увеличение количества промиелоцитов у девочек III группы по сравнению с девочками I группы, а также увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов у мальчиков IV группы и у девочек I группы, по сравнению с мальчиками и девочками II и III групп.

Анализируя мазки костного мозга, мы выявили редукцию всех ростков нормального кроветворения, что мы связываем с пролиферацией бластных элементов. Обладая преимуществом в росте, этот лейкозный субклон,

потерявший способность к дифференцировке постепенно вытесняет нормальный (табл. 7) [Алексеева. 543 с].

При этом было обнаружено достоверное смещение ($P < 0,05$) лейкоэритробластического отношения в сторону лейкоцитов у девочек III группы по сравнению с девочками I группы.

Было обнаружено увеличение количества промиелоцитов у девочек III группы по сравнению с девочками I группы, а также увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов у мальчиков IV группы и у девочек I группы, по сравнению с мальчиками и девочками II и III групп.

Нами также было проведено исследование СОЭ у больных острым лимфобластным лейкозом.

СОЭ – это скорость оседания эритроцитов, ранее было другое название, такое как (РОЭ) - реакция оседания эритроцитов. СОЭ является одним из простых и популярных лабораторных тестов, представленный в общем анализе крови (ОАК). Существует две методики определения СОЭ:

- методика по Т. П. Панченкова, который основан на свойстве агрегатов эритроцитов оседаться на дне сосуда, капилляр на 100 делений;
 - методика по Вестергрена, отличие, этого метода от вышеперечисленного в том, что он состоит в использовании более точной шкалы (на 200 делений) с градуировкой на каждый миллиметр) [Хотим, с. 1-5].
- Если СОЭ повышен, то сначала нужно будет исключить физиологические причины нарушения (например, повышена у людей пожилого возраста; у женщины вследствие менструации или связано повышение с беременностью). Если физиологических причин нет, то повышение СОЭ является вследствие патологических причин (например, инфекции, инфаркт, шоковые состояние, анемия, а также при хронических и острых лейкозах) [Хотим, с. 1-5].

Уменьшение СОЭ может быть из-за того, что, происходит нарушение в водно-солевого обмена в организме или также может наблюдаться вследствие прогрессивной дистрофии мышц. Помимо этого, уменьшение СОЭ может вызвать: голодание, вегетарианская диета и многое другое [Хотим, с. 1-5].

В нашем исследовании для определения СОЭ была использована методика Панченкова. Было показано, что СОЭ, по методу Панченкова, было выше нормы, как у мальчиков, так у девочек (табл. 8). Вероятно, данное повышение СОЭ свидетельствует о том, что в организме происходит воспалительный процесс, который возник вследствие данной патологии и терапии цитостатиками, применяемой для лечения ОЛЛ.

Наряду с общей лейкоцитарной формулой имеются так называемые лейкоцитарные индексы — исследование соотношений разных типов белых кровяных телец в крови.

Мы рассчитали следующие интегральные лейкоцитарные индексы:

1. Индексы эндогенной интоксикации – ЛИИ, ИСЛК, Индекс Кребса, РОИ.
2. Индексы неспецифической реактивности организма – ИРО, ЛИ.
3. Индексы активности воспаления – ИЛСОЭ, ИЛГ.

Данные по интегральным лейкоцитарным индексам, представлены в таблице 9.

Если классификация экзогенных интоксикаций основана на природе вызывающих их ядов (отравление дихлорэтаном, мышьяком и т.д.) или содержащих их продуктов (пищевые отравления), то эндогенные интоксикации классифицируются в зависимости от заболевания, послужившего источником их возникновения (травматическая, радиационная, инфекционная, гормональная интоксикации, опухолевая), или физиологической системы, расстройство которой привело к накоплению в организме токсических продуктов (кишечная, почечная интоксикация) [Гаврилов, с. 13-17].

Эндогенная интоксикация, как правило связана с заболеваниями, которые отвечают за усиленный распад тканей, процесс катаболизма, а также ЭИ развивается на воздействие инфекционных агентов. Интоксикация обычно наступает в результате действия циркулирующих в крови токсических веществ; циркуляция в крови эндогенных ядов чаще обозначается как токсемия, а циркуляция токсинов – как токсинемия. По клиническому течению

интоксикации делят на острые и хронические. Тяжесть интоксикации определяется величиной токсической дозы и реактивностью организма. Соответственно, выделяют интоксикации легкой, средней и тяжелой степени. Клиническими проявлениями синдрома являются: общая слабость с чувством разбитости, нарушение сна и аппетита, мышечные и головные боли, а также температурные реакции (может быть, как гипер-, так и гипотермия), гипервентиляция легких, тахикардия, энцефалопатия, лейкоцитоз или лейкопения, коагулопатии (синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания) [Гаврилов, с. 13-17].

Интоксикационный синдром (ИС), является одним из ярких клинических проявлений реакции организма на прогрессивно развивающиеся опухоли. Проявление синдрома эндогенной интоксикации нарастает в первую очередь с клиническими проявлениями угнетения нормального кроветворения, анемического и геморрагического синдрома и прогрессирует в случае инфекционной патологии, а также по мере увеличения костномозговой и внекостномозговой пролиферации [Кузнецов, С. 1-7].

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), позволяет дать адекватную оценку по степени и выраженности интоксикационного процесса внутри организма, индекс рассчитывается по формуле Кальф-Калифа (1941) [Кальф – Калиф, С. 31-35.]. Так же для диагностики инфекционного процесса часто используют ЛИИ, РОН и индекс Кребса. Лейкоцитарные индексы интоксикации, дают полную картину об степени тяжести болезни, эффективности терапии, и также позволяют понять состояние человека в течении воспалительного процесса и ЭИ.

Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) представляет собой соотношение уровня (%) нейтрофилов (палочкоядерных + сегментоядерных) и суммы лимфоцитов, моноцитов и эозинофилов; характеризует активность процессов фагоцитоза и пролиферации нейтрофилов [Ткаченко, с. 81-83].

Из таблицы 9 видно, что лейкоцитарный индекс интоксикации по Кальф-Калифа у пациентов с ОЛЛ был ниже нормы или на уровне нормы. Однако у

мальчиков III группы мы отметили достоверное ($P < 0,001$) понижение ЛИИ по сравнению с девочками-сверстницами.

Из таблицы 9 также видно, что лейкоцитарный индекс интоксикации по Кальф-Калифа у девочек 8-16 лет был достоверно ниже ($P < 0,001$) по сравнению с девочками из I группы.

Отмеченный факт снижения ЛИИ у детей с ОЛЛ, скорее всего связан с резким сдвигом лейкограммы в сторону бластных элементов, которые не учитываются в лейкограмме и провалом юных гранулоцитарных форм или их незначительным количеством в лейкоформуле наших пациентов.

Снижение ЛИИ, таким образом, свидетельствует о снижении фагоцитарной активности нейтрофилов и пролиферации этих клеток, что может быть связано с иммуносупрессивным действием цитостатиков [Турбасова, с. 25-27].

Повышение ЛИИ может быть связано с исчезновением эозинофилов, увеличением количества сегментоядерных форм лейкоцитов, плазматических клеток и снижением числа лимфоцитов. А также повышение данного индекса свидетельствует о тяжелом протекании воспалительного процесса в организме. [Использование лейкоцитарных индексов, с. 1-6].

Индекс Кребса (ИК) представляет собой отношение общего количества (%), нейтрофилов к лимфоцитам; косвенно характеризует, во-первых, активность фагоцитарных реакций и факторов специфического иммунитета, во-вторых, их участие в поддержании общей реактивности организма [Ткаченко, с. 81-83].

При воспалительном процессе с легкой эндогенной интоксикацией ИК равен $2,8 \pm 0,4$, при средней тяжести эндогенной интоксикации — $4,86 \pm 0,97$, при тяжелой степени — более $5,76 \pm 1,19$ [Лейкоцитарные индексы, с. 76-83].

Анализируя результаты исследования (табл. 10) мы выявили, что индекс Кребса, как у девочек, так и у мальчиков всех возрастных групп был ниже физиологической нормы.

Кроме того, у мальчиков III группы ИК был достоверно ($P < 0,001$) ниже, нежели у больных девочек I группы; также Данный параметр имел возвратные различия у мальчиков: у детей IV группы ИК был достоверно ($P < 0,001$) выше, нежели у пациентов-мальчиков 1-7 лет.

Данный факт мы можем также связать с иммуносупрессивным действием программной химиотерапии на клетки крови и органы лейкопоза, что отражает степень ингибирования процессов фагоцитоза нейтрофилов.

Индекс сдвига лейкоцитов крови (ИСЛК) это отношения суммы всех нейтрофилов, эозинофилов, базофилов к сумме моноцитов и лимфоцитов.

Как видно из таблицы 9, ИСЛК был ниже нормы, как у мальчиков, так и у девочек всех возрастных групп.

Данные изменения можно рассматривать как показатель активного, но при этом адекватного и своевременного ответа клеток крови на воспалительный процесс, что возможно расценивать как благоприятный признак [Концентрация С-реактивного белка, с. 102–104].

Анализируя далее результаты таблицы 9 видно, что данный параметр был достоверно выше ($P < 0,001$) у мальчиков IV группы, больных ОЛЛ, по сравнению с более молодыми мальчиками-пациентами.

Кроме того, у детей III группы ИСЛК был достоверно ниже ($P < 0,001$), чем у их сверстниц.

Повышение ИСЛК говорит об активном воспалительном процессе, а также о нарушении иммунологической реактивности [Сакович, с. 88-90].

Согласно результатам клинических исследований, РОН является более чувствительным и менее подверженным погрешностям индексом оценки тяжести эндогенной интоксикации, чем ЛИИ.

Как видно из таблицы 9, РОН у всех пациентов с ОЛЛ был значительно ниже нормативных значений.

Снижение данного индекса свидетельствует о том, что наблюдается высокая степень токсического воздействия на организм, за счет появления большого числа бластных клеток [Банзаракшеев, с.390-391].

Также в ходе исследования нами было показано достоверное ($P < 0,001$) снижение РОН у всех пациентов IV группы по сравнению с девочками-сверстниками и мальчиками младшего возраста.

Активность воспаления при острых лейкозах определяют с помощью индексов ИЛСОЭ и ИЛГ.

Лимфоцитарно-гранулоцитарный индекс (ИЛГ) позволяет дифференцировать аутоинтоксикацию и инфекционную интоксикацию [Банзаракшеев, с.390-391].

Из таблицы 9 видно, что у девочек и мальчиков младшего и старшего возраста, ИЛГ был значительно выше нормы.

Было отмечено, что у мальчиков младшего возраста данный индекс был достоверно ($P < 0,01$) выше, чем у девочек-сверстниц. Также было отмечено, что у мальчиков старшего возраста данный индекс был достоверно ($P < 0,05$) ниже, чем у мальчиков младшего возраста.

Данный факт свидетельствует о наличии аутоинтоксикации в организме всех пациентов. Также это свидетельствует об активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ [Маев, с. 64-70].

Далее нами был проанализирован Индекс соотношения лейкоцитов и СОЭ (ИЛСОЭ) (табл. 9). По данному индексу можно судить о наличии интоксикации, которая связана с инфекционным (это снижение индекса) или аутоиммунным, воспалительным (повышение индекса) процессом.

Как видно из таблицы 9, у всех пациентов, имеющих ОЛЛ, ИЛСОЭ был ниже нормы.

Мы также отметили, что у девочек старшего возраста наблюдалось достоверное ($P < 0,05$) понижение данного индекса, по сравнению с девочками младшего возраста. Кроме того, у мальчиков старшего возраста, мы зарегистрировали достоверное повышение ($P < 0,001$) ИЛСОЭ по сравнению с девочками аналогичной возрастной группы.

Все вышеописанные факты, свидетельствуют о том, что в организме пациентов обнаруживается интоксикация, которая связана с инфекционным процессом.

Одним из индикаторов в системе организма, который контактирует с внешней средой, является кровеносная система. Именно от нее зависит адекватная реакция организма на воздействие внешней среды. Воздействие разнообразных внешних факторов на человеческий организм вызывает стресс-реакцию, в следствии которой каскадные реакции с повышением уровня динамики конкретных систем организма, включая регуляторные системы, мобилизующие функциональные резервы. Таким образом неспецифическая реакция организма – это стресс. Отрицательные эмоции и неудовлетворенность напрямую влияют на тревогу, в следствии чего повышают стресс [Воздействие внешних факторов, с. 1-4]. Конечным результатом такого стресса является активная нагрузка надпочечников и симпатки, истощая стресс-лимитирующую систему, что погружает человека в сильное угнетение психоэмоционального состояния, нарушение метаболизма, конечным результатом чего является развитие патологии. При любых видах лейкоза, стресс вызывают такие факторы как: химиотерапия, различные препараты, психосоматическое состояние человека и многое другое.

В 90-х годах М.А. Уколовой и Л.Х. Гаркави (1995) была представлена теория о неспецифических адаптационных реакциях организма (НАРО) на малые и умеренные раздражители. Авторы описывают, что в сложных системах организма, существует большое количество комплексов НАРО с влиянием как положительных, так и отрицательных, на адаптационные реакции и состояние здоровья человека. В качестве главного маркера на адаптационную реакцию организма, ими было предложено использовать лейкоциты. Анализ лейкоцитарных элементов крови, с помощью неспецифической адаптационной реакции организма, позволяют более быстро и точно определять изменение адаптационной реакции по периферической крови, с учетом того, что получение лейкограммы происходит с помощью высокоточных

гематологических анализаторов [Гаркави, с. 11-26]. А также с помощью таких индексов, как ИРО, ЛИ, можно определить неспецифическую реакцию организма.

Лейкоцитарный индекс (ЛИ) — отношение лимфоцитов к нейтрофилам (миелоциты, метамиелоциты — юные, палочкоядерные, сегментоядерные), отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы.

Из таблицы 9 видно, что лейкоцитарный индекс был выше нормы у всех пациентов, как у мальчиков, так и у девочек.

У мальчиков старшего возраста наблюдалось достоверное ($P < 0,001$) снижение ЛИ, по сравнению с больными мальчиками младшего возраста.

Кроме того, у мальчиков младшего возраста отмечено достоверное ($P < 0,001$) повышение ЛИ по сравнению с девочками-сверстницами.

Увеличение ЛИ по сравнению с нормой, свидетельствует о том, что происходят патологические изменения в крови, а также о тяжелом воспалительном процессе в организме [Островский, с. 73-78].

Вероятно, при истощении основной популяции лейкоцитов периферической крови — сегментоядерных нейтрофилов — на первое место вышли другие иммунокомпетентные клетки. Так, согласно повышению лимфоцитарного (лейкоцитарного) индекса, который характеризует отношение лимфоцитов к нейтрофилам и отражает взаимоотношение гуморального и клеточного звена иммунной системы [Кобец, с. 47 - 48], в группе больных с ОЛЛ было выявлено преобладание лимфоцитов над нейтрофилами. Вероятнее всего, неполноценность первой линии защиты против бактериальной инфекции, реализуемой посредством фагоцитоза нейтрофилами, приводит к активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ [Маев, с 64-70].

Оценивая индекс резистентности организма (ИРО), в который входит ЛИИ как один из основных компонентов, мы выявили следующее (табл. 9), как

и у мальчиков младшего и старшего возраста, так и у девочек аналогичных возрастных групп данный индекс не выходил за границы нормы.

Кроме того, ИРО у всех мальчиков был достоверно ($P < 0,01$; $P < 0,001$) ниже, нежели у их сверстниц.

Снижение ИРО указывает на возможность развития инфекционных осложнений, а увеличение его на 3–7-й день — на отсутствие воспалительных осложнений. При показателях ИРО в пределах нормы (50-100) осложнения встречаются в 34,4% случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. За период с 2007 по 2016 гг. в Тюмени и Тюменской области отмечен рост числа пациентов с впервые выявленными случаями лейкозов.

2. С 2007 г. по 2016 г. в г. Тюмени и Тюменской области отмечено увеличение числа пациентов с впервые выявленными случаями острого лимфобластного лейкоза Среди пациентов с острым лимфобластным лейкозом за весь период исследования преобладали мальчики.

3. Качественным подтверждением наличия патологического процесса явилась регистрация положительной ШИК-реакции и отрицательной реакции на миелопероксидазу лейкозных клеток у детей, больных острым лимфобластным лейкозом.

4. Анализ различных серий лейкоцитов в крови детей, больных острым лимфобластным лейкозом, выявил смещение лейкоформулы в сторону лимфоцитарного ростка с явлением бластемии.

5. У больных детей выявлено повышение количества бластных элементов в костном мозге с угнетением нормальных ростков кроветворения. Об активации лимфоцитарного ростка кроветворения свидетельствует лейкоэритробластическое отношение, которое было смещено в сторону лейкоцитов.

6. У больных острым лимфоидным лейкозом, снижение значений гематологических лейкоцитарных индексов эндогенной интоксикации свидетельствует о снижении фагоцитарной и бактерицидной активности нейтрофилов.

7. Низкие значения индекса соотношения лейкоцитов и СОЭ свидетельствуют о наличии интоксикации, связанной с инфекционным процессом. Высокие значения лимфоцитарно-гранулоцитарного индекса и лейкоцитарного индекса свидетельствуют о наличии аутоинтоксикации, а также о тяжелом воспалительном процессе в организме всех пациентов и об активации второй линии защиты - лимфоцитов, реализующих специфический иммунный ответ.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. A pediatric regimen for older adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia: results of CALGB 10403 / W. Stock, S. M. Luger, A. S. Advani [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 14. P. 1548–1559.
2. Azacitidine maintenance after intensive chemotherapy improves DFS in older AML patients / G. Huls, D. A. Chitu, V. Havelange [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 13. P. 1457-1464.
3. Definitive radiotherapy for localized follicular lymphoma staged by 18F-FDG PET-CT: A collaborative study by ILROG / J.L. Brady, M.S. Binkley, C. Hajj [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 3. P. 237-245.
4. Molecular remission and response patterns in patients with mutant-IDH2 acute myeloid leukemia treated with enasidenib / E. M. Stein, C. D. DiNardo, A. T. Fathi [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 7. P. 676-687.
5. Novel susceptibility variants at the ERG locus for childhood acute lymphoblastic leukemia in Hispanics / M. Qian, H. Xu, V. Perez-Andreu [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 7. P. 724-729.
6. Ogawa S. Genetics of MDS // Blood, 2019. V. 133. N. 10. P. 1049–1059.
7. Targeting Sirt-1 controls GVHD by inhibiting T-cell allo-response and promoting Treg stability in mice / A. Daenthanasanmak, S. Iamsawat, P. Chakraborty [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 3. P. 266-279.
8. Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia / C. D. DiNardo, K. Pratz, V. Pullarkat [et al.] // Blood, 2019. V. 133. N. 1. P. 7-17.
9. Zeiser R., Vago L. Mechanisms of immune escape after allogeneic hematopoietic cell transplantation // Blood, 2019. V. 133. N. 12. P. 1290-1297.
10. Алексеева Н.А. Гематология детского возраста. Санкт Петербург: Гиппократ, 1998. 545 с.

11. Ананьева О.В. доц. кафедры КЛД ПФК и ППС ТюмГМА Диагностика острых лейкозов. Презентация. Тюмень: ТюмГМА, 2015. 1 электрон.
12. Банзаракшеев В.Г. Лейкоцитарные индексы, как способ эндогенной интоксикации организма //Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. №3(73). С. 390-391. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/leykotsitarnye-indeksy-kak-sposob-otsenki-endogennoy-intoksikatsii-organizma> (дата обращения: 09.06.2020).
13. Бутенко З.А., Барановский М.А., Науменко О.И. Лейкозные клетки: происхождение, ультраструктура, дифференцировка. Киев: Наукова думка, 1984. 216 с.
14. Вилкинсон Д. Принципы и методы диагностической энзимологии. Москва: Медицина, 1981. 624 с.
15. Воздействие внешних факторов на формирование адаптационных реакций организма /Н.А. Агаджанян, Г.М. Коновалова, Р.Ш. Ожева, Т.Ю. Уракова // Новые технологии. 2010. №2. С. 142-144. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=15173732> (дата обращения: 09.06.2020).
16. Возрастные изменения интегральных гематологических индексов у крупного рогатого / А.П. Жуков, Е.Б. Шарафутдинова, А.П. Датский, М.М. Жамбулов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. Оренбург: 2016. № 4(60) С. 213-216. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vozrastnye-izmeneniya-referentnyh-integralnyh-gematologicheskikh-indeksov-nespetsificheskoy-reaktivnosti-u-zdorovyh-loshadey/viewer> (дата обращения: 06.05.2020).
17. Волкова М.А. Клиническая онкогематология: руководство для врачей. Москва: Медицина, 2001. 576 с.
18. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б. О критериях оценки неспецифической резистентности организма при действии различных биологических активных факторов с позиции теории адаптационных реакций // Миллиметровые волны в биологии и медицине. 1995. № 6. С. 11-21.

19. Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах в 2 томах. Т. 1 /Под ред. Л.Д. Гриншпун, А.В. Пивника. Москва: Медиум, 2012. 316 с.
20. Гериатрическая гематология. Заболевания системы крови в старших возрастных группах в 2 томах. Т. 2 /Под ред. Л.Д. Гриншпун, А.В. Пивника. Москва: Медиум, 2012. 728 с.
21. Дульцин М.С., Кассирский И.А., Раушенбах М.О. Лейкозы: Этиология, патогенез, клиника, лечение. Москва: Медицина, 1965. 432 с.
22. Калиф-Калиф Я.Я. О лейкоцитарном индексе интоксикации и его практическом значении // Врачебное дело. 1941. №1. С. 31-35.
23. Карпищенко А.И. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 696 с.
24. Кисляк Н.С., Ленская Р.В. Клетки крови у детей в норме и патологии. Москва: Медицина, 1978. 256 с.
25. Кишкун А.А. Клиническая лабораторная диагностика. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 976 с.
26. Кобец Т.В. Влияние санаторно-курортного лечения на гомеостатические возможности детей с рецидивирующим бронхитом //Таврический медико-биологический вестник. Симферополь: 2015. Т. 18, № 4(72) С. 34-37. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-sanatorno-kurortnogo-lecheniya-na-gomeosticheskie-vozmozhnosti-detey-s-retsdiviruyuschim-bronhitom/viewer> (дата обращения: 11.05.2020).
27. Ковалева Л.Г. Острые лейкозы. Москва: Медицина, 1990. 272 с.
28. Кузнецов П.Л., Борзунов В.М. Синдром эндогенной интоксикации в патогенезе вирусного гепатита // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013. №4. С. 44-50. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21440226> (дата обращения: 11.05.2020).
29. Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие. Москва: Высшая школа, 1990. 352 с.

30. Лейкоз - причины возникновения. Госпиталь Ихиллов. Официальный сайт. URL: <http://ichilov.net/bloodcancer/LeukemiaCauses/> (дата обращения 30.05.2020).

31. Лейкоз - хронический миелобластный. Госпиталь Ихиллов. Официальный сайт. URL: <http://ichilov.net/bloodcancer/LeukemiaChronicMyeloid/> (дата обращения 27.05.2020).

32. Лейкозы острые и хронические. URL: <http://www.studfiles.ru/preview/1564747/page:3/> (дата обращения 30.05.2020).

33. Лекция 12. Методы статистической обработки результатов. URL: <http://u4isna5.ru/konspektlekci/38-putvnauku/155-putvnauku212> (дата обращения 05.06.2020).

34. Маев И.В., Голубев Н.Н. Принципы диагностики и рациональной фармакотерапии хронического гастрита. //Российский медицинский журнал. 2010. Т. 18, № 28. С. 1702-1706. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18949572> (дата обращения: 09.06.2020).

35. Матвеева И.И., Блиндарь В.Н. Алгоритм лабораторной диагностики острого лейкоза. Москва: Медицинское информационное агентство, 2013. 48 с.

36. Маянский А.Н., Невмятуллин А.Л. Функциональное зондирование нейтрофилов: проблемы и перспективы // Клиническая лабораторная диагностика. 1997. №5. С. 9-10.

37. Менткевич Г.Л., Маякова С.А. Лейкозы у детей. Москва: Практическая медицина, 2009. 384 с.

38. Морозова В.Т. Лабораторная диагностика лейкозов. Ленинград: Медицина, Ленинградское отделение, 1977. 150 с.

39. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. Москва: Медицина, 2006. 544 с.

40. Нормы клинического анализа крови у детей, расшифровка результатов, таблицы. Официальный сайт. TheRebenok.ru Уход и воспитание

ребенка. URL: <http://therebenok.ru/zdorove/diagnostika/obshhij-analiz-krovi-u-detej.html> (дата обращения 05.06.2020).

41. Осипов С.Г. Клеточный иммунитет при лейкозах // Проблемы гематологии и переливания крови. 1978. №8. С. 36-39.

42. Основные причины поражения печени при остром лимфобластном лейкозе у детей / Т.А. Высоцкая, Л.Н. Гусева, С.Р. Варфоломеева [и др.] // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. 1999. Т. 78, №3. С. 34-38.

43. Оценка эндогенной интоксикации организма по нарушению баланса между накоплением и связыванием токсинов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.М. Бидула, Д.А. Фурманчук [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. 1999. № 2. С. 13–17.

44. Песоцкая Л.А. Динамика показателей состояния гемопоэза у больных острым лимфобластным лейкозом // Врачебное дело. 1998. №1. С. 101-107.

45. Позднее миелосупрессивное воздействие программной химиотерапии при остром лимфобластном лейкозе у детей / Е.Б. Владимирская, К.С. Казначеев, Е.Ю. Осипова [и др.] // Гематология и трансфузиология. 2000. Т.45, №1. С. 3-6.

46. Показатели крови и лейкоцитарного индекса интоксикации в оценке тяжести и определении прогноза при воспалительных, гнойных и гнойно-деструктивных заболеваниях брюшной полости и легких / В.К. Островский, С.В. Макаров, Д.В. Янголенко [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал, 2011. № 1. С. 73-78. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/pokazateli-krovi-i-leykotsitarnyy-indeks-intoksikatsii-pri-otsenke-tyazhesti-techeniya-i-opredelenii-prognoza-vospalitelnyh-gnoynyh-i/viewer> (дата обращения: 06.05.2020).

47. Прогностическое значение уровня спонтанного апоптоза лимфобластов в оценке ответа на индукционную терапию острого лимфобластного лейкоза у детей / Е.Ю. Осипова, Т.А. Астрелина, С.А. Румянцева [и др.] // Гематология и трансфузиология. 2003. Т.48, №1. С.16-19.

48. Рагимова А.А. Трансфузиология. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 1184 с.
49. Рукавицына О.А. Гематология. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 776 с.
50. Рукавицына О.А., Скворцов С.В., Зенина М.Н. Гематология. Атлас-справочник. Санкт-Петербург: Детство-Пресс, 2009. 256 с.
51. Савченко В.Г., Паровичникова Е.Н. Острый промиелоцитарный лейкоз: практическое руководство [Электронный ресурс]. Москва: Литтерра, 2010. - 208 с. URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785904090241.html> (дата обращения: 09.06.2020).
52. Сакович А.Р. Гематологические лейкоцитарные индексы при остром гнойном синусите // Медицинский журнал. 2012. №4(42) С. 88-91. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21039543> (дата обращения: 09.06.2020).
53. Сакович А.Р. Концентрация С- реактивного белка у пациентов с острым гнойным синуситом // Российская оториноларингология. 2012. № 5(60) С. 113-117. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18410643> (дата обращения: 11.05.2020).
54. Семин Б.В., Донник И.М., Самуйленко А.Я. Способность к межвидовому переносу вирусов лейкоза крупного рогатого скота и человека // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2014. № 1. С. 62-65. URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21249311> (дата обращения: 11.05.2020).
55. Сибиркин Н.В., Горелов И.З. Лейкозы: Клиника, течение, дифференциальная диагностика и лечение хронического миелолейкоза: Методическое пособие для врачей курсантов. Ленинград: [б. и.], 1968. 46 с.
56. Сипливый В.А., Конь Е.В., Евтушенко Д.В. Использование лейкоцитарных индексов для прогнозирования исхода перитонита. //Клінічна хірургія. 2009. № 9. С. 21-26.
57. Скворцов В.В., Скворцова З.С., Мязин Р.Г. Острые лейкозы: принципы диагностики // Медлайн Экспресс. Москва: 2003. № 2. С. 12-15. URL:

<http://www.naclo.ru/opublikovannyye-stati/type/4/103/> (дата обращения: 11.05.2020).

58. Созыкин В.Л. Фагоцитарная функция нейтрофилов при экспериментальном лейкозе // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1976. №1. С. 54-56.

59. Справочник лабораторные методы исследования в клинике /Под ред. В.В. Меньшикова. Москва: Медицина, 1987. 368 с.

60. Стренева Т.Н. Дифференцированная терапия острого лейкоза. Свердловск: Средне-Уральское книжное издательство, 1975. 296 с.

61. Сублейкемический лейкоз. Nedug.ru Официальный сайт. URL: http://www.nedug.ru/library/лейкоз_сублейкемический/Лейкозы/3 (дата обращения 27.05.2020).

62. Ткаченко Е.А., Дерхо М.А. Лейкоцитарные индексы при экспериментальной кадмиевой интоксикации мышей //Ветеринария. 2014. С. 81-83. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/leykotsitarnye-indeksy-pri-eksperimentalnoy-kadmievoy-intoksikatsii-myshey> (дата обращения: 11.06.2020).

63. Турбасова Н.В. Лейкоцитарные индексы. Презентация. Тюмень: ТюмГУ, 2017. 1 электрон.

64. Турбасова Н.В., Фролова О.В., Соловьев В.С. Оценка состояния метаболической активности нейтрофилов у детей, больных острым лимфобластным лейкозом //Гематология и трансфузиология. 2017. Т. 62, №1. С. 25-28. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=28874650> (дата обращения: 13.06.2020).

65. Филатов Л.Б. Нейролейкемия у взрослых пациентов с острым лимфобластным лейкозом: проблемы и перспективы. Часть II. Основные виды профилактики нейролейкемии, лечение нейрорецидива // Терапевтический архив. 2007. Т. 79. № 11. 79-87 с.

66. Хейфец Л.Н. Изучение цитохимических особенностей лимфобластов и нейтрофилов в динамике ОЛЛ и их возможное прогностическое значение // Терапевтический архив. 1979. №9. С.71-75.

67. Хомченковский Е.И. Экспериментальная химиотерапия лейкозов. Москва: Медицина, 1980. 240 с.

68. Хотим Е.Н., Жигальцов А.М., Аппаду Кумара. Синдром ускоренной СОЭ в практике врача: интерпретация и вопросы тактики // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. Беларусь: 2015. № 1 (49). С. 129-133. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23171755> (дата обращения: 13.06.2020).

69. Хронический лимфолейкоз. Медицинский справочник болезней. Онкологические болезни. Официальный сайт. URL: <https://www.krasotaimedicina.ru/diseases/oncologic/chronic-lymphocytic-leukemia> (дата обращения 27.05.2020).

70. Цитотоксическая активность мононуклеарных клеток крови и лимфокинактивированных киллеров у детей с острым лимфобластным лейкозом / Г.В. Казанова, К.В. Добренёв, С.Р. Варфоломеева [и др.] // Иммунология. 2000. № 3. С. 45-47.

71. Цой Р.М., Пак И.В. Основы иммунологии. Тюмень: ТГУ, 2001. 196 с.

72. Чухловин А.Б. Усиление апоптоза лейкоцитов периферической крови в связи с развитием лейкопении после интенсивной химиотерапии // Вопросы онкологии. 1999. №4. С. 384-386.