

Латышев В. Д., Костина И. Э., Щепина К. М., Дейнеко Н. Л., Ковригина А. М., Лукина Е. А.

ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОЧНОЙ ЭКСПРЕССИИ pERK В БИОПТАТАХ ПОРАЖЕННЫХ ТКАНЕЙ У БОЛЬНЫХ С ГИСТИОЦИТОЗАМИ

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Введение. Гистиоцитозы — группа редких заболеваний, характеризующихся патологической инфильтрацией тканей клетками, происходящими из системы мононуклеарных фагоцитов. В последние годы активно изучаются молекулярно-биологические особенности гистиоцитозов. Так, было показано, что в большинстве случаев гистиоцитозов имеет место патологическая активация MAPK-сигнального пути, обусловленная соматическими мутациями в генах *BRAF*, *MAP2K1*, *NRAS*, *KRAS*. В ряде случаев встречается конститутивная активация PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути или других рецепторных тирозинкиназ. Белок ERK является терминальной киназой MAPK-сигнального пути. Фосфорилирование ERK с образованием pERK свидетельствует об активации всего MAPK-каскада. Изучение сигнальных путей при гистиоцитозах открывает новые терапевтические возможности для применения таргетных препаратов — ингибиторов контрольных точек.

Цель работы. изучить частоту экспрессии pERK в биоптатах пораженных тканей больных с незлокачественными формами гистиоцитозов. Сопоставить наличие экспрессии pERK с нозологической формой гистиоцитоза и результатами таргетной терапии.

Материалы и методы. Для оценки экспрессии pERK проводили иммуногистохимическое окрашивание гистологических препаратов с применением антитела phospho-ERK1+ERK2 [SC58-01] производства Huabio. Все пациенты в качестве терапии получали ингибитор MEK-киназы — траметиниб, в дозе 1 мг/сутки. Эффективность лечения оценивали по снижению концентрации островоспалительных маркеров и сокращению размеров патологических очагов по данным лучевых методов исследований (КТ, МРТ).

Результаты и обсуждение. в исследование включили 10 больных с гистологически подтвержденным диагнозом гистиоцитоза: 6 больных с гистиоцитозом из клеток Лангерганса (ГКЛ), 2 — с болезнью Эрдгейма — Честера (БЭЧ), 1 — со смешанной формой (ГКЛ + БЭЧ) и 1 пациент — с болезнью Розаи — Дорфмана (RDD) (таблица).

У 3/10 (30%) больных в гене *BRAF* была выявлена мутация V600E. Экспрессия pERK клетками инфильтрата выявлена у 7 из 10 больных (70%), в том числе у 3 больных с доказанной мутацией *BRAF* V600E. Отсутствие экспрессии pERK в 3 случаях может объясняться преимущественным вовлечением в патогенез других сигнальных путей или преаналитическими особенностями (возможное нарушение антигенной сохранности архивного материала). Наличие pERK-позитивных клеток не имело связи с нозологической формой гистиоцитоза. Важно отметить, что траметиниб был эффективен у всех 10 больных, независимо от наличия или отсутствия экспрессии pERK.

Заключение. Исследование экспрессии pERK иммуногистохимическим методом позволяет выявить активацию MAPK-сигнального пути. Данный информативный иммуногистохимический маркер может использоваться для диагностики гистиоцитозов и выбора патогенетической терапии, в том числе при невозможности проведения полноценного молекулярно-генетического исследования. Феномен эффективности траметиниба в отсутствие экспрессии pERK требует дальнейшего изучения.

Таблица.

Пациент	Пол, возраст	Диагноз	Материал биоптата	Статус BRAF	Экспрессия pERK
1	Ж, 29	ГКЛ	Очаг нижней челюсти	mut V600E	+
2	Ж, 47	ГКЛ	Толстая кишка	mut V600E	+
3	Ж, 38	ГКЛ + БЭЧ	Кожа	wt	-
4	Ж, 60	ГКЛ	Синовиальная оболочка (плечо)	wt	+
5	Ж, 40	БЭЧ	Паранефральные образования	wt	-
6	Ж, 28	ГКЛ	Легкое	wt	-
7	Ж, 38	ГКЛ	Лимфоузел	wt	+
8	М, 44	БЭЧ	Паранефральные образования	mut V600E	+
9	М, 68	RDD	Кожа	wt	+
10	М, 58	ГКЛ	Очаг теменной кости	wt	+

Лемешко Ю. И.¹, Суцевский А. Б.², Дегтярева Е. В.², Метлицкая Е. С.²

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ДЕФИЦИТ ФАКТОРА VIII У НОВОРОЖДЕННОГО В РАННЕМ НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ (КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ)

¹Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения УО «Белорусский государственный медицинский университет», ²УЗ «5-я городская клиническая больница» г. Минск

Введение. Система гемостаза у новорожденных представляет собой развивающийся процесс, который зависит от многих перинатальных факторов. В неонатальном периоде коагуляционные нарушения, как правило, имеют приобретенный характер. Однако встречаются и наследственные нарушения с необычными проявлениями, затрудняющими диагностику. Существуют лабораторные диагностические тесты, которые позволяют оценить различные звенья системы гемостаза. На сегодняшний день оптимальным считается применение глобальных тестов, которые дают интегральную оценку изменений в свертывающей системе крови.

Цель работы. Оценить информативность лабораторных тестов для диагностики коагуляционных нарушений при геморрагических проявлениях у новорожденного.

Материалы и методы. 21.11.2023 от 2 неосложненной беременности, 2 срочных родов через естественные родовые пути родился доношенный мальчик П. с массой тела 4020 г, длиной 57 см. Оценка по шкале Апгар — 8/8 баллов. Из анамнеза матери установлено: гибель брата в 2-месячном возрасте от черепно-мозговой травмы. После рождения была выполнена вакцинация против гепатита «В» и внутримышечное введение витамина К1 («Конакион»). В 1-е сутки жизни появилась отечность и гематома в области правого бедра, кровоточивость из мест инъекций, желудочное кровотечение. Данные клинические проявления были расценены как геморрагическая болезнь новорожденного, ранняя форма. В общем анализе крови: RBC $2,43 \times 10^{12}/л$, HGB 91 г/л, HCT 26,9%, PLT $264 \times 10^9/л$. По результатам гемостазиограммы коагуляционные нарушения выявлены не были (АЧТВ 20,8 сек, ПВ 13 сек,



Рис.

ПТИ 0,85; МНО 1,19; фибриноген 1,19 г/л). Результаты ТЭГ: низкая функциональность факторов свертывания (R 56,2 min), низкая функциональная активность тромбоцитов (МА 31,1 mm), низкая функциональная активность фибриногена (K 17,4 min). Учитывая клинические и лабораторные данные, выполнена коррекция геморрагического и анемического синдромов: трансфузия свежезамороженной плазмы, отмытых эритроцитов, антигеморрагического средства «Октаплекс», криопреципитата; внутривенное введение витамина К₁. Состояние ребенка было стабилизировано, геморрагический и анемический синдромы купированы. На 3-и сутки жизни отмечается увеличение размера гематомы с распространением выше паховой связки. По данным гемостазиограммы и ТЭГ отмечается гипокоагуляция (АЧТВ 108,8 сек, ПВ 12,4 сек, ПТИ 0,88; МНО 1,16; фибриноген 2,7 г/л; низкая

функциональность факторов свертывания R >10 min), которая корригировалась антигеморрагическим средством «Октаплекс». С целью уточнения причины геморрагического синдрома назначен дифференцированный анализ на концентрацию факторов свертывания, который выявил следовую активность фактора VIII. Проводилась заместительная терапия концентратом фактора VIII («Октанат»).

Результаты и обсуждение. Учитывая клинические и лабораторные данные, выставлен диагноз: Наследственный дефицит фактора VIII (Гемофилия А), тяжелая степень. Причиной геморрагического синдрома явилась следовая активность фактора VIII.

Заключение. Использование ТЭГ позволяет проводить интегрированную оценку гемостаза, что позволяет выбрать эффективную тактику оказания медицинской помощи новорожденному.

Леонов Е. А., Хамаганова Е. Г., Кузьмина Е. П., Абдрахимова А. Р., Хижинский С. П., Гапонова Т. В.

ВЫЯВЛЕНИЕ 46 НОВЫХ АЛЛЕЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ У ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК РЕГИСТРА ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Введение. Среди всех человеческих генов, гены, кодирующие молекулы HLA, демонстрируют особенно высокий уровень полиморфизма. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) является одним из этапов программного лечения многих злокачественных заболеваний системы крови и наследственных заболеваний. Важнейшим фактором, обуславливающим успех алло-ТГСК, остается совместимость больного и донора по HLA-генам. Обычно для регистров доноров ГСК используют методы, позволяющие получить результат на уровне низкого или высокого разрешения, при таком типировании есть вероятность не выявить новые аллели у доноров ГСК. Внедрение технологии секвенирования следующего поколения (NGS) позволяет получать типирование на уровне ультравысокого разрешения, а также определять полиморфизмы, приводящие к образованию у доноров ГСК новых аллелей, а, следовательно, избежать неожиданных несовпадений больного и донора по HLA-генам.

Цель работы. Оценить структуру разнообразия выявленных новых HLA-аллелей у доноров ГСК регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России.

Материалы и методы. В период с августа 2019 года по май 2022 методом NGS было выполнено HLA-типирование 7069 доноров ГСК регистра ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России. У всех доноров было получено добровольное информированное согласие. Выделение геномной ДНК из образца периферической крови донора производили с помощью наборов QIAamp DNA Blood Mini Kit и автоматизированной системы выделения ДНК QIAcube (Qiagen, ФРГ). HLA типирование проводили методом NGS с использованием набора AllType NGS Amplification Kits (One Lambda, США). Анализ полученных в результате секвенирования последовательностей HLA-генов проводили при помощи компьютерной программы TypeStream Visual Software (TSV) (One Lambda, США).

Результаты и обсуждение. В результате у доноров ГСК было выявлено 46 новых аллелей с различными вариантами полиморфизмов. Характеристика выявленных полиморфизмов представлена в таблице. 19 аллелям из 46 выявленных официально были

присвоены новые имена согласно комитету ВОЗ по HLA номенклатуре (A*02:01:01:208; A*02:957; A*03:445; A*24:521; A*26:01:01:53; A*26:01:64; A*66:44; A*68:288; B*13:152; B*18:01:01:74; B*35:01:70; C*06:02:01:93; C*07:02:01:161; C*07:1012; C*12:03:67; C*12:364; DQA1*05:51; DQB1*06:03:44; DRB1*01:141). Остальные аллели — в процессе рассмотрения заявок на новое имя.

Заключение. Внедрение в практику секвенирования следующего поколения позволяет получить полные последовательности генов HLA и без затруднений выявлять у доноров регистра новые аллели, что снижает вероятность неожиданных несовпадений больного и донора по HLA-генам. В зависимости от варианта полиморфизма, доноры с новыми, а, следовательно, редкими аллелями, могут быть учтены при подборе неродственного донора при проведении у больного алло-ТГСК.

Таблица

Характеристика выявленных полиморфизмов	Абсолютное число	% от числа выявленных полиморфизмов
Замены в ключевых экзонах	9	19,57
· Синонимичные замены	4	8,70
· Несинонимичные замены	5	10,87
Замены в неключевых экзонах	18	39,13
· Синонимичные замены	5	10,87
· Несинонимичные замены	13	28,26
Замены в интронах и UTR — областях	20	43,48
Аллели I класса	27	58,70
· ген A	10	21,74
· ген B	6	13,04
· ген C	11	23,91
Аллели II класса	19	41,30
· ген DRB1	5	10,87
· ген DQB1	6	13,04
· ген DQA1	3	6,52
· ген DPB1	4	8,70
· ген DPA1	1	2,17

Лепехина М. А., Хамаганова Е. Г., Кузьмина Е. П., Леонов Е. А., Абдрахимова А. Р., Хижинский С. П., Урыбин И. Ю.

НУЛЕВЫЕ HLA-АЛЛЕЛИ У НЕРОДСТВЕННЫХ ДОНОРОВ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК БАЗЫ ДАННЫХ ФГБУ «НМИЦ ГЕМАТОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ

ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России

Введение. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) является в настоящее время неотъемлемой частью программной терапии различных заболеваний системы крови. Подбор HLA-совместимых донора и реципиента имеет решающее значение для результатов аллогенных ТГСК. Нулевые аллели HLA характеризуются отсутствием серологически детектируемого продукта. Они могут быть ошибочно диагностированы как нормально экспрессируемые варианты. Неправильная детекция нулевого HLA-аллеля при алло-ТГСК ведет к несоответствию донора и реципиента по HLA, которое будет

стимулировать аллогенные Т-клетки и запускать реакцию «трансплантат против хозяина» или, учитывая распространенность в настоящее время режимов кондиционирования пониженной интенсивности, «хозяин против трансплантата». Для некоторых нулевых HLA-аллелей возможна трансляция в усеченную полипептидную цепь, которая может действовать как минорный антиген гистосовместимости. HLA-типирование с высоким разрешением подразумевает исключение нулевых HLA-аллелей вне зависимости от места локации полиморфизма, вызвавшего появление нулевого аллеля.

МАТЕРИАЛЫ VII КОНГРЕССА ГЕМАТОЛОГОВ И IV КОНГРЕССА
ТРАНСФУЗИОЛОГОВ РОССИИ 11-13 АПРЕЛЯ 2024 ГОДА.

МОСКВА

ISSN (Print) 0234-5730
ISSN (Online) 2411-3042

ФГБУ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ГЕМАТОЛОГИИ
МИНЗДРАВА РОССИИ
НАЦИОНАЛЬНОЕ
ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

ГЕМАТОЛОГИЯ И ТРАНСФУЗИОЛОГИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ
69.2. 2024

RUSSIAN JOURNAL
OF HEMATOLOGY AND
TRANSFUSIOLOGY
(GEMATOLOGIYA I TRANSFUSIOLOGIYA)

