

# Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 1(21)

2019 г.

## Учредитель

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

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

## Журнал зарегистрирован

Министерством информации  
Республики Беларусь,  
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 12.04.19  
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.  
Гарнитура «Times New Roman».  
Печать цифровая. Тираж 110 экз.  
Усл. печ. л. 20,5. Уч.-изд. л. 11,8.  
Зак. 20.

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

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

ISSN 2074-2088

## Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., доцент)

## Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор, зам. гл. редактора),  
В.В. Аничкин (д.м.н., профессор), В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), Н.Г. Власова (д.б.н., доцент, научный редактор),  
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Велякин (к.б.н., доцент),  
А.В. Воропаева (к.м.н., доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.),  
В.В. Евсеенко (к.п.с.н.), С.В. Зыблева (к.м.н., отв. секретарь),  
А.В. Жарикова (к.м.н.), С.А. Игумнов (д.м.н., профессор),  
И.Н. Коляда (к.м.н.), А.В. Коротаев (к.м.н., доцент),  
А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарич (к.м.н., доцент),  
С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), Я.Л. Навменова (к.м.н.),  
Э.А. Надыров (к.м.н., доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор),  
Э.Н. Платошкин (к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.),  
А.С. Подгорная (к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент),  
И.П. Ромашевская (к.м.н.), М.Г. Русаленко (к.м.н., доцент),  
А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н.), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор),  
А.Н. Цуканов (к.м.н.), Н.И. Шевченко (к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент),

## Редакционный совет

В.И. Жарко (Минск), А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск),  
О.В. Алейникова (д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск),  
С.С. Алексанин (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),  
Д.А. Базыка (д.м.н., профессор, Киев), А.П. Бирюков (д.м.н., профессор, Москва),  
Е.Л. Богдан (МЗ РБ, Минск), Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва),  
А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов (д.м.н., академик РАМН, Москва),  
М.П. Захарченко (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),  
Л.А. Ильин (д.м.н., академик РАМН, Москва),  
К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов (д.б.н., профессор, Санкт-Петербург),  
Н.Г. Кручинский (д.м.н., Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск),  
Д.Л. Пиневиц (МЗ РБ, Минск), В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург),  
Н.Д. Тронько (д.м.н., профессор, Киев), А.Л. Усс (д.м.н., профессор, Минск),  
В.А. Филонюк (к.м.н., доцент, Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск),  
В.Е. Шевчук (к.м.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

## Технический редактор

С.Н. Никонович

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

© Государственное учреждение  
«Республиканский научно-практический центр  
радиационной медицины и экологии человека», 2019

№ 1(21)

2019

# Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

## **Founder**

Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

Journal registration  
by the Ministry of information  
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre  
for Radiation Medicine  
and Human Ecology

**ISSN 2074-2088**

**Редакторская колонка**

- А.В. Рожко, Е.Л. Богдан**  
 ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» в системе минимизации медицинских последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС 6

**Обзоры и проблемные статьи**

- Е.М. Бредихин, А.В. Величко**  
 Субклинический синдром Кушинга. Современные подходы к диагностике и лечению 11
- Г.Н. Фильченков, Е.Г. Попов, И.А. Чешик, Е.Ф. Конопля**  
 Физиология стероид-транспортных белков крови в процессе старения (обзор) 21

**Медико-биологические проблемы**

- О.Н. Антипенко**  
 Эффективность нового ферроцианид-содержащего сорбента 30
- К.Н. Буздалькин**  
 Метод оперативной оценки доз облучения персонала, ожидаемых в результате ингаляции радионуклидов при тушении пожаров 36
- Н.Г. Власова**  
 Радиационные аварии 43
- Е.А. Дрозд, Н.Г. Власова**  
 Метод индивидуализации дозы внутреннего облучения населения, проживающего на загрязненной территории, при недостатке или отсутствии данных СИЧ-измерений 51
- Д.В. Кононенко, Т.А. Кормановская**  
 Оценка риска для здоровья населения субъектов Российской Федерации при равномерном пожизненном облучении радоном 56

**Editorial column**

- A.V. Rozko, E.L. Bogdan**  
 SI «The republican research center for radiation medicine and human ecology» in a system of minimizing the consequences of the chernobyl accident

**Reviews and problem articles**

- E.M. Bredihin, A.V. Velichko**  
 Subclinical Cushing syndrome. Modern approaches to diagnosis and treatment
- G.N. Filchenkov, E.H. Popoff, I.A. Cheshyk, E.F. Konoplya**  
 Physiology of steroid-specific transport proteins during aging (review)

**Medical-biological problems**

- O.N. Antipenko**  
 The efficacy of the new ferrocyanide-containing sorbent
- K.N. Bouzdalkin**  
 A method for rapid assessment of radiation exposure of personnel is expected as a result of the inhalation of radionuclides in case of fighting fires
- N.G. Vlasova**  
 The radiation accidents
- E.A. Drozd, N.G. Vlasova**  
 A method of internal dose individualization to population living on a contaminated territory in the absence of data from WB-measurements
- D.V. Kononenko, T.A. Kormanovskaya**  
 Risk assessment for the population of the regions of the Russian Federation from constant lifelong exposure to radon

- Т.А. Кормановская, Н.А. Королева, Е.С. Кокоулина, Т.А. Балабина**  
Природное облучение работников неураниевых отраслей промышленности в Российской Федерации 62
- Е.Ф. Мицура, Л.И. Волкова**  
Значение гематологических показателей в диагностике наследственного сфероцитоза у детей первого года жизни 68
- И.В. Орадовская, Т.Т. Радзивил**  
Мониторинг иммунного статуса персонала Сибирского химического комбината при наличии хронических заболеваний. Зависимость от возраста, сроков контакта с факторами профвредности и дозы облучения 73
- И. М. Хмара, Н.А. Васильева, Н.С. Корытко**  
Композиция тела у женщин с нормальной и избыточной массой тела в различные периоды репродуктивного здоровья 86

**Клиническая медицина**

- В.В. Зарецкий, С.А. Игумнов, Н.В. Коренский, Ю.В. Блыш**  
Био-психо-социальные особенности отклоняющегося поведения у подростков, характеризующихся сочетанным употреблением психоактивных веществ 98
- М.В. Белевцев, М.Г. Шитикова, И.Е. Гурьянова, С.О. Шарапова, Ю.С. Жаранкова, А.С. Купчинская, С.Н. Алешкевич, А.П. Саливончик, И.С. Сакович, Е.А. Полякова, Т.А. Углова, О.В. Алейникова**  
Иммунологические и генетические особенности общей варибельной иммунной недостаточности (ОВИН) у детей и взрослых в Республике Беларусь 104
- Е.В. Власова-Розанская**  
Медицинская реабилитация пациентов с системной красной волчанкой 112
- Ж.М. Козич, В.Н. Мартинков, Ж.Н. Пугачева, А.А. Ковалевич, Л.А. Смирнова**  
Иммунофенотипические маркеры CD56, CD117, CD33, CD20 и их роль при моноклональной гаммапатии неопределенного генеза и множественной миеломе у пациентов гомельского региона 117

**Clinical medicine**

- V.V. Zaretsky, S.A. Igumnov, N.V. Karenski, Y.V. Blysh**  
The bio-psycho-social features of the adolescents with deviant behavior who using combined psychoactive substances
- M. Belevtsev, M. Shytikova, I. Gurianova, S. Sharapova, J. Zharankova, A. Kupchinskaja, S. Aleshkevich, A. Salivonchik, I. Sakovich, E. Poliarova, T. Uglova, O. Aleinikova**  
Immunological and genetic features of common variable immune deficiency (CVID) in children and adults in the Republic of Belarus
- E.V. Vlasova-Rozanskaya**  
Medical rehabilitation of patients with systemic lupus erthematosus
- Z.M. Kozich, V.N. Martinkov, Z.N. Pugacheva, A.A. Kavalevich, L.A. Smirnova**  
Significance of the expression of tumor antigens CD56, CD117, CD33, CD20 as prognostic factors in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma

- С.А. Лихачев, Н.Н. Усова, А.Н. Цуканов, Д.А. Голубова, А.А. Мельников**  
Объективизация хронического болевого синдрома у пациентов с сахарным диабетом 124
- Ya. Navmenova, I. Savasteeva, M. Rusalenko, E. Mahlina, N. Holupko, T. Gavrylenko**  
Assessment of possible risk factors for the development of anxiety disorders in patients with diabetes mellitus type I 131
- Е.В. Родина, Н.И. Корженевская, Д.П. Саливончик, Д.И. Гавриленко**  
Роль предикторов электрической нестабильности миокарда предсердий в ранней диагностике пароксизмальной фибрилляции предсердий и их связь со структурно-функциональными изменениями сердца 138
- А.Е. Силин, Д.К. Новик, В.Н. Мартинков, И.Н. Козарь, В.В. Кошкевич, А.В. Воропаева, А.А. Силина, И.Б. Тропашко, С.М. Мартыненко**  
Молекулярно-генетическая и клинико-лабораторная характеристики пациентов с идиопатическим миелофиброзом 144
- С.А. Ходулева, И.П. Ромашевская, А.Н. Демиденко, Е.Ф. Мицура**  
Клиническая манифестация иммунной тромбоцитопении у детей 150

**Обмен опытом****Experience exchange**

- С.А. Иванов, В.А. Кривенчук, Д.Д. Редько, И.Д. Шляга, В.С. Волчек**  
Реконструкция крыла носа носогубным лоскутом и модифицированным пазл-лоскутом: сравнительная характеристика косметических результатов 156
- S.A. Ivanou, V.A. Krivenchuk, D.D. Radzko, I.D. Shlyaga, V.S. Volchek**  
Nasal ala reconstruction with nasolabial flap and with modified «puzzle» flap: comparative study of cosmetic outcomes

УДК 616.155.194.76-076:575.224.234

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

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И КЛИНИКО- ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ИДИОПАТИЧЕСКИМ МИЕЛОФИБРОЗОМ

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

В результате проведенного исследования показано, что индивидуальное использование основных маркеров клональной миелолипролиферации в виде соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL позволяет проводить молекулярно-генетическую верификацию диагноза «Идиопатический миелофиброз» в 66,4%, 11,8% и 5,0% случаях соответственно. При совместном тестировании этих мутаций диагностическая чувствительность метода достигает 83,2%.

Установлено, что положительный мутационный статус по генам JAK2 и CALR значимо связан с возрастом пациентов, уровнем гемоглобина, количеством эритроцитов и тромбоцитов.

Для JAK2-положительных пациентов характерны более высокие показатели лейкоцитов и более низкие значения ЛДГ в плазме крови по сравнению с JAK-негативными пациентами. У CALR-положительных пациентов уровень ЛДГ был значимо выше. Положительный мутационный статус по гену MPL определял статистически значимо большее число случаев спленомегалии.

**Ключевые слова:** хронические миелолипролиферативные заболевания, идиопатический миелофиброз, JAK2, CALR, MPL, полимеразная цепная реакция

### Введение

Идиопатический миелофиброз (ИМ) относится к группе «классических» Ph-негативных клональных гематологических болезней. Первым известным сообщением о ИМ было описание в 1879 г. двух пациентов с фиброзом костного мозга и экстрамедуллярным кроветворением в печени и селезенке, автором которого был Gustav Heuck [1].

ИМ (первичный миелофиброз, агногенная миелоидная метаплазия, миелосклероз с миелоидной метаплазией, сублейкемический миелоз, хронический гранулоцитарно-мегакариоцитарный миелоз) – хроническое миелолипролиферативное заболевание (ХМПЗ), которое характеризуется клональной миелоидной пролиферацией, повышенной секрецией ростовых факторов, разви-

тием фиброза в костном мозге, появлением очагов экстрамедуллярного гемопоэза и, как следствие, гепатоспленомегалией [2].

Течение ИМ сопровождается многообразными клиническими проявлениями: возникают признаки интоксикации, анемический и геморрагический синдромы, тромбозы и тромбоземболии сосудов, последствия гепато- и спленомегалии, инфекционные осложнения. В клиническом течении ИМ выделяют начальную хроническую фазу и терминальную фазу бластной трансформации. На основании гистологического исследования костного мозга морфологически выделяют префиброзную миелолипролиферативную стадию заболевания и фиброзную стадию с костномозговой недостаточностью [3].

В среднем заболеваемость ИМ составляет до 1 случая на 100 тыс. населения.

Мужчины болеют чаще, чем женщины. В основном заболевание диагностируется в возрасте 50-70 лет [2, 4]. Среди ХМПЗ ИМ в большинстве случаев протекает наиболее тяжело. Средняя продолжительность жизни с момента установления диагноза составляет около 5 лет. Это определяет актуальность своевременной диагностики, позволяющей точно дифференцировать данное заболевание от вторичных состояний.

Используемые ранее для диагностики ХМПЗ данные комплексного клинико-лабораторного анализа и инструментальных исследований в ряде случаев не позволяли однозначно дифференцировать реактивные состояния от клональной миелолипролиферации. Это было связано с отсутствием надежных маркеров, позволяющих однозначно выявлять клональный характер заболевания. Внедрение подобных маркеров в диагностику ИМ стало возможным благодаря открытиям в области молекулярно-генетических механизмов возникновения ХМПЗ.

Молекулярный патогенез Ph-негативных ХМПЗ долгое время оставался неизвестен. С учетом способности к эритропоэтин-независимому росту эритроидных колоний, характерной для 98-100% пациентов с ИП, было высказано предположение о повышенной тирозин-киназной активности в эритроидных предшественниках [2, 5].

В 2005 году была впервые описана ассоциация мутации V617F гена JAK2 с ХМПЗ, в том числе и ИМ [5, 6, 7]. Клональная и рекуррентная мутация, приводящая к замене аминокислоты валина на фенилаланин в JH2 псевдокиназном домене гена Янус-киназы 2 (JAK2), была определена у большинства (> 80%) больных с истинной полицитемией [8].

Также у больных с ХМПЗ выявляют мутации и в других генах. Идентифицированы молекулярные нарушения в 10 экзоне гена MPL (мутации W515L и W515K), кодирующего рецептор тромбопоэтина. Тромбопоэтин, главный гуморальный регулятор тромбопоэза в организме человека, участвует в патогенезе миелофиброза [9].

В последние годы показана ассоциация диагнозов ИМ и эссенциальной тромбоцитемии с наличием соматических мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания в 9 экзоне гена кальретикулина (CALR) [10]. Первые сообщения о высокой частоте соматических мутаций гена кальретикулина (CALR) в образцах пациентов с ХМПЗ были опубликованы в конце 2013 года двумя коллективами авторов: Klampfl et al., 2013 [11] и Nangalia et al., 2013 [12].

При анализе диагностической и клинической значимости вышеперечисленных молекулярных маркеров авторами для изучаемых групп пациентов с ИМ приводятся различающиеся данные.

**Цель** данного *исследования* – оценка индивидуальной и совокупной диагностической значимости соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL и определение их связи с клинико-лабораторными параметрами у пациентов с ИМ.

#### **Материал и методы исследования**

Группа исследования сформирована из числа пациентов, проходивших курс лечения в гематологическом отделении для взрослых ГУ «РНПЦ РМиЭЧ». Диагноз пациентов был определен по результатам комплекса диагностических исследований, включающих общий анализ крови, трепанобиопсию, цитогенетическое исследование костного мозга, миелограмму, инструментальные методы. Образцы материала для исследования отбирались только после получения письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Для подтверждения Ph-негативного статуса пациентов проводился анализ на наличие Ph-хромосомы рутинным цитогенетическим методом исследования и BCR-ABL1 транскрипта (p.210) методом РТ-ПЦР с использованием тест-системы «АмплиСенс Лейкоз Квант М-bcr -FRT» (AmpliSens Biotechnologies, РФ).

Материалом для молекулярно-генетического анализа являлись образцы ДНК, выделенные из цельной венозной крови посредством набора «Нуклеосорб»-В

(Праймтех, РБ) в соответствии с прилагаемой инструкцией по применению.

Мутацию V617F гена JAK2 анализировали методом ARMS-PCR, применяя 4 различных праймера для избирательной амплификации как фрагмента с мутацией, так и фрагмента ДНК с нормальной структурой, а также фрагмента в области экзона 14 для контроля качества амплификации. Мутации del/ins гена CALR анализировали методом ПЦР с использованием двух праймеров, фланкирующих 9 экзон. Мутации W515L и W515K гена MPL анализировали методом ARMS-PCR. Характеристики используемых праймеров и параметры проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) приведены в таблице 1.

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

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

Оценка лабораторных показателей и возраста на момент диагноза проводилась

с использованием медианы и 1, 3 квартилей, оценка долей – с использованием точного критерия Фишера. Различия признавались статистически значимыми при вероятности ошибки  $p < 0,05$ .

### Результаты исследований

В исследование были включены 119 пациентов с диагнозом «Идиопатический миелофиброз» с медианой возраста 62 (54; 73) года, из них 54 мужчины (45,4%), 65 – женщины (54,4%).

### Мутация V617F гена JAK2

В группе ИМ мутация JAK2 V617F присутствовала у 79 пациентов из 119 (66,4%), частота встречаемости не зависела от пола: среди мужчин 68,5%, среди женщин – 64,6%,  $p = 0,700$ .

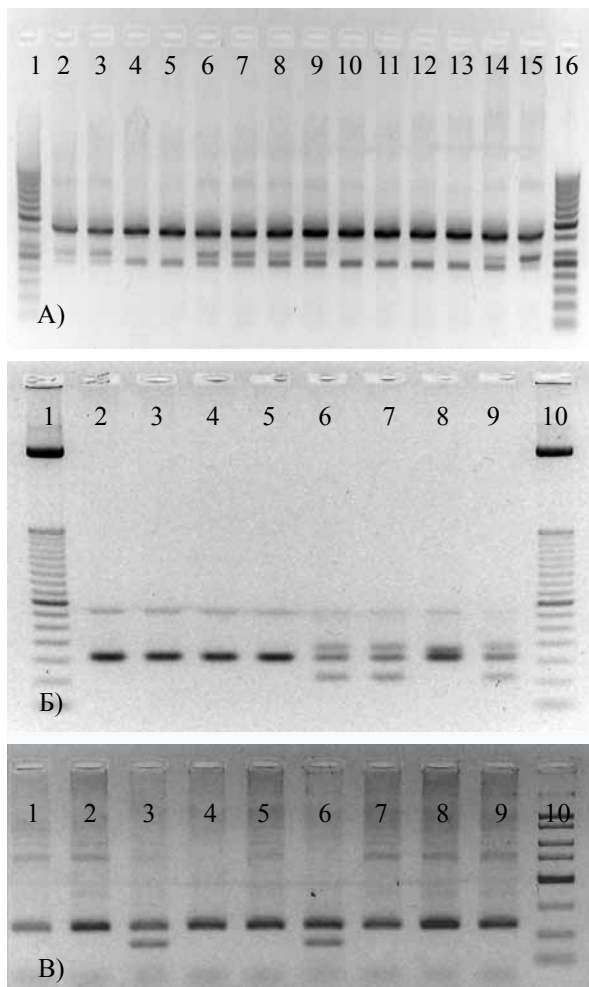
Возраст установления диагноза у пациентов с мутацией JAK2 был статистически значимо выше, чем возраст у пациентов без мутации: 64 (57; 77) года и 60,0 (46; 69) лет,  $p = 0,011$ . При этом мутация V617F гена JAK2 значимо чаще определялась среди пациентов в возрасте старше 50 лет (71,3%),  $p = 0,034$ .

Анализ данных лабораторных исследований показал, что наличие мутации JAK2 у пациентов с ИМ сопровождалось статистически значимо более высокими показателями количества эритроцитов  $4,5 \times 10^{12}/л$  ( $3,4 \times 10^{12}/л$ ;  $5,2 \times 10^{12}/л$ ),  $p < 0,001$ , и уровня гемоглобина – 130 (93,7; 147,0) г/л,  $p < 0,001$ , а также количества лейкоцитов  $11,2 \times 10^9/л$  ( $7,6 \times 10^9/л$ ;  $16,7 \times 10^9/л$ ),  $p = 0,001$ , тромбоци-

**Таблица 1** – Олигонуклеотидные праймеры для ПЦР

Ген	Название праймера	Последовательность нуклеотидов 5'-3'	Параметры ПЦР		
			MgCl <sub>2</sub> , mM	T <sub>отж</sub> , °C	циклы
JAK2	JAK2-FO	TCCTCAGAACGTTGATGGCAG	2,0	57	40
	JAK2-RO	ATTGCTTTCCTTTTTCACAAGAT			
	JAK2-Fwt	GCAATTTGGTTTTAAATATGGAGTATATG			
	JAK2-Rmt	GTTTTACTTACTCTCGTCTCCACAAAA			
CALR	CALR-F	GCAGCAGAGAAACAAATGAAGG	1,25	58	35
	CALR-R	CTTCCTCCTTGTCCCTCCTCA			
MPL	MPL-F	GCCGAAGTCTGACCSTTTT	1,25	56	35
	MPL-R	ACAGAGCGAACCAAGAATGCCTGTTTACA			
	MPL-W515L	GGCCTGCTGCTGCTGAAGTT			
	MPL-W515K	TGTAGTGTGCAGGAACTGCTT			





А) мутация V617F гена JAK2. Дорожки 4, 5, 10-13 – образцы без мутации, дорожки 2, 3, 6-9, 14 и 15 – образцы, содержащие мутацию V617F гена JAK2, дорожка 1 и 16 – маркер молекулярного веса; Б) мутации гена CALR. Дорожки 6, 7 и 9 – образцы с мутацией del, дорожка 8 – образец с мутацией ins, дорожки 2-5 – образцы без мутаций, дорожка 1 и 10 – маркер молекулярного веса; В) мутации W515L гена MPL. Дорожки 1, 2, 4, 5, 7-9 – образцы с нормальной последовательностью ДНК; дорожки 3 и 6 – образцы, содержащие мутацию W515L гена MPL, дорожка 10 – маркер молекулярного веса

**Рисунок 1** – Электрофоретическая детекция

тов  $501,0 \times 10^9/\text{л}$  ( $251,0 \times 10^9/\text{л}$ ;  $828,0 \times 10^9/\text{л}$ ),  $p=0,003$ . Содержание ЛДГ в подгруппе JAK-положительных пациентов было достоверно ниже  $327,0$  ( $257,0$ ;  $488,0$ ) Ед/л в сравнении со случаями без указанной мутации  $484,5$  ( $278,0$ ;  $736,0$ ) Ед/л,  $p=0,035$ .

#### Мутации del и ins гена CALR

Мутации гена CALR выявлены у 14 пациентов из группы ИМ (11,8%), при этом в

подавляющем большинстве случаев (13 из 14) определялась в виде del. Частота встречаемости мутаций CALR у мужчин 9,3%, у женщин – 13,8%, но различия статистически не значимы  $p=0,571$ .

Средний возраст постановки диагноза у пациентов с мутациями CALR (53 (42; 68) года) был значимо меньше возраста пациентов без данных мутаций (63 (56; 75) года),  $p=0,025$ . При этом мутации значимо чаще определялись в возрастной группе до 50 лет включительно (28,0%),  $p=0,010$ .

По данным лабораторных и инструментальных исследований статистически значимых различий в зависимости от наличия мутаций CALR не выявлено, за исключением уровня ЛДГ, который был значимо выше среди пациентов с мутациями (687,5 (410; 769) Ед/л),  $p=0,011$ .

#### Мутации гена MPL

Мутация MPL W515L в исследуемой группе выявлена в 6 случаях из 119 (5,0%), при этом статистически значимых различий в частоте определения в зависимости от пола также не выявлено.

Несмотря на то, что во всех случаях мутации MPL были выявлены у пациентов старше 50 лет (6,4%), различия по частоте определения мутаций в сравнении с группой младше 50 лет (0%) были статистически не значимы,  $p=0,341$ .

#### Сравнительные характеристики

Сопоставление в группе ИМ подгрупп пациентов с различными мутациями JAK2, CALR или MPL между собой и с пациентами без мутаций показало статистически значимые различия по возрасту установления диагноза только между пациентами с мутациями JAK2 (63,0 (56,0; 76,0) года) и с мутациями CALR (53,0 (42,0; 68,0) года),  $p=0,015$ .

Данные лабораторных анализов показали, что уровни гемоглобина ( $130$  (93,7;  $147,0$ ) г/л и  $119,5$  (96; 126)) г/л, количество эритроцитов ( $4,5 \times 10^{12}/\text{л}$  ( $3,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ;  $5,2 \times 10^{12}/\text{л}$ ) и  $4,0 \times 10^{12}/\text{л}$  ( $3,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ;  $4,4 \times 10^{12}/\text{л}$ )) и количество тромбоцитов ( $501 \times 10^9/\text{л}$  ( $251 \times 10^9/\text{л}$ ;  $828 \times 10^9/\text{л}$ ) и

537,5×10<sup>9</sup>/л (220×10<sup>9</sup>/л; 684×10<sup>9</sup>/л)), были значимо больше у пациентов с мутациями JAK2 и CALR, чем аналогичные показатели среди пациентов без каких-либо мутаций: p<0,001 и p=0,005 при сравнении уровней гемоглобина, p<0,001 и p=0,022 – по количеству эритроцитов, p<0,001 и p=0,006 – по количеству тромбоцитов соответственно. Уровень ЛДГ в плазме крови пациентов с мутациями JAK2 (327 (257; 488) Ед/л) был статистически значимо ниже, чем у пациентов с мутациями CALR (687,5 (410; 769) Ед/л), p=0,007, и мутациями MPL (641,5 (537; 697) Ед/л), p=0,015.

По результатам клиничко-инструментальных исследований показано, что среди пациентов, у которых определена мутация MPL, частота выявления спленомегалии была 100%. Это значимо чаще, чем среди пациентов с мутацией JAK2 (35,4%), p=0,003, и без каких-либо мутаций (20,0%), p=0,001, а также больше, чем у пациентов с мутациями CALR (50,0%), но различия на уровне тенденции, p=0,052.

Суммарно мутации JAK2, CALR и MPL в группе ИМ присутствовали в 83,2% (99/119) случаев. Их индивидуальная и суммарная распространенность представлена на рисунке 2.

В объединенной группе пациентов, имеющих какую-либо из изучаемых мутаций, показатели клиничко-лабораторных исследований были статистически значимо более высокие по сравнению с пациентами без мутаций: количество эритроцитов

4,1×10<sup>12</sup>/л (3,4×10<sup>12</sup>/л; 5,0×10<sup>12</sup>/л) и 3,2×10<sup>12</sup>/л (2,8×10<sup>12</sup>/л; 3,5×10<sup>12</sup>/л), p<0,001; уровень гемоглобина крови 124 (91,9; 143,5) г/л и 93,4 (81,6; 99,0) г/л, p<0,001; количество лейкоцитов 10,3×10<sup>9</sup>/л (6,7×10<sup>9</sup>/л; 15,2×10<sup>9</sup>/л) и 7,5×10<sup>9</sup>/л (3,2×10<sup>9</sup>/л; 13,5×10<sup>9</sup>/л), p=0,025; количество тромбоцитов 498×10<sup>9</sup>/л (231×10<sup>9</sup>/л; 787×10<sup>9</sup>/л) почти в 5 раз больше, чем у пациентов без мутаций 101,1×10<sup>9</sup>/л (48,5×10<sup>9</sup>/л; 474×10<sup>9</sup>/л), p<0,001.

### Заключение

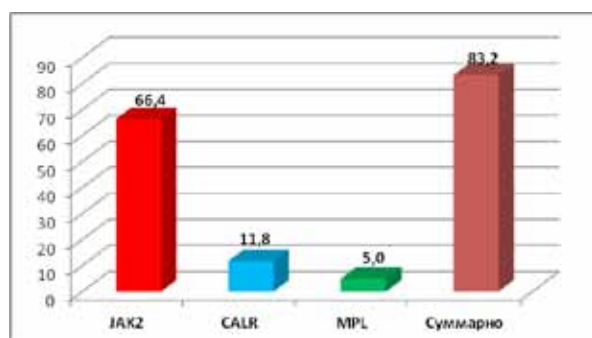
В результате проведенного исследования показано, что индивидуальное использование основных маркеров клональной миелопролиферации в виде соматических мутаций генов JAK2, CALR и MPL позволяет проводить молекулярно-генетическую верификацию диагноза «Идиопатический миелофиброз» в 66,4%, 11,8% и 5,0% случаев соответственно. При совместном тестировании этих мутаций диагностическая чувствительность метода достигает 83,2%.

Положительный мутационный статус по генам JAK2 и CALR значимо связан с возрастом пациентов, уровнем гемоглобина, количеством эритроцитов и тромбоцитов.

Для JAK2-положительных пациентов характерны более высокие показатели лейкоцитов и более низкие значения ЛДГ в плазме крови по сравнению с JAK-негативными пациентами. У CALR-положительных пациентов уровень ЛДГ был значимо выше. Положительный мутационный статус по гену MPL определял статистически значимо большее число случаев спленомегалии.

### Библиографический список

1. Weinstein, I.M. Idiopathic myelofibrosis: Historical review, diagnosis and management / I.M. Weinstein // Blood Reviews. – 1991. – Т. 5, № 2. – С. 98-104.
2. Моисеев, С.И. Хронические миелопролиферативные заболевания. Классификация, диагностика и лечение: Пособие для студентов, интернов, клинических ординаторов и врачей [Электронный ресурс] / С.И. Моисеев



**Рисунок 2** – Распространенность мутаций генов JAK2, CALR и MPL в группе пациентов с идиопатическим миелофиброзом

- сеев, А.Ю. Зарицкий, Г.Н. Салогуб. – СПб. – 2005. – С. 39. – Режим доступа: [http://window.edu.ru/resource/209/70209/files/metod\\_mielo.pdf](http://window.edu.ru/resource/209/70209/files/metod_mielo.pdf). – Дата доступа: 16.05.2016.
3. Клинические рекомендации по диагностике и терапии Ph-негативных миелопролиферативных заболеваний (истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия, первичный миелофиброз) / А.Л. Меликян [и др.] // Гематол. и трансфузиол. – 2014. – Т. 59, № 4. – С. 31-56.
4. Первичный миелофиброз / Л.М. Мещерякова [и др.] // Онкогематология. – 2011. – № 4. – С. 50-57.
5. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders / E.J. Baxter [et al.] // The Lancet. – 2005. – Vol. 365, № 9464. – P. 1054-1061.
6. Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis. / R.L. Levine [et al.] // Cancer cell. – 2005. – Vol. 7, № 4. – P. 387-397.
7. Jones, A.V. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders / A.V. Jones // Blood. – 2005. – Vol. 106, № 6. – P. 2162-2168.
8. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera / C. James [et al.] // Nature. – 2005. – Vol. 434, № 7037. – P. 1144-1148.
9. A Sensitive Detection Method for MPLW515L or MPLW515K Mutation in Chronic Myeloproliferative Disorders with Locked Nucleic Acid-Modified Probes and Real-Time Polymerase Chain Reaction / A. Pancrazzi [et al.] // The Journal of Molecular Diagnostics. – 2008. – Vol. 10, № 5. – P. 435-441.
10. A sensitive detection method for MPLW515L or MPLW515K mutation in myeloproliferative disorders / J. Chi [et al.] // Euro. J. Exp. Bio. – 2014. – Vol. 4, № 5. – P. 33-36.
11. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms / T. Klampfl [et al.] // New England J. of medicine. – 2013. – Vol. 369, № 25. – P. 2379-2390.
12. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms with nonmutated JAK2 / J. Nangalia [et al.] // New England J. of medicine. – 2013. – Vol. 369, № 25. – P. 2391-2405.

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

#### **MOLECULAR GENETIC AND CLINICAL LABORATORY CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH IDIOPATHIC MYELOFIBROSIS**

As a result of the study, there was shown that individual use of the main markers of clonal myeloproliferation in the form of somatic mutations of the JAK2, CALR and MPL genes allows for molecular genetic verification of the diagnosis of «idiopathic myelofibrosis» in 66,4%, 11,8% and 5,0% of cases respectively. With joint testing of these mutations, the diagnostic sensitivity of the method reaches 83,2%.

There has been established that the positive mutational status of the JAK2 and CALR genes is significantly associated with the age of the patients, the level of hemoglobin, the number of erythrocytes and platelets.

JAK2-positive patients are characterized by higher leukocyte counts and lower plasma LDH values compared with JAK-negative patients. In CALR-positive patients, the level of LDH was significantly higher. The positive mutational status of the MPL gene determined a statistically significantly greater number of cases of splenomegaly.

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

Поступила 25.03.2019