

*Д.Ф. Глузман  
Л.М. Склярченко  
И.В. Абраменко  
В.А. Надгорная  
Н.И. Белоус  
Л.Ю. Полудненко  
Н.И. Гребельная  
С.В. Яременко*

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины*

*Всеукраинский благотворительный фонд «Гематопатологи для больных со злокачественными заболеваниями крови»*

## 7-ЛЕТНИЙ ОПЫТ РАБОТЫ РЕФЕРЕНТНОЙ ЛАБОРАТОРИИ ПО ДИАГНОСТИКЕ ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**Резюме.** *Представлены данные по использованию современных морфо-цитохимических и иммуноцитологических методов в диагностике опухолевых заболеваний кроветворной и лимфоидной тканей. За 7-летний период проведено обследование 4533 больных, включая детей, с острыми лейкозами миелоидного и лимфоидного происхождения из г. Киева, АР Крым и 17 областей Украины. Проведено уточненное выделение различных форм и цитологических вариантов гемобластозов на основе современных классификаций, что имеет важное значение для определения прогноза и выбора оптимальных схем терапии.*

### Ключевые слова:

*гемобластозы, цитохимия, иммунофенотипирование, моноклональные антитела.*

В структуре заболеваемости населения Украины злокачественные заболевания кроветворной и лимфоидной тканей (гемобластозы) занимают первое место у детей (45–50% всех опухолей), четвертое — у мужчин и девятое — у женщин [1]. Помощь больным оказывают 367 врачей, работающих в 32 гематологических отделениях, развернутых на базе областных и городских больниц [2]. Эффективность лечения больных с лейкозами и другими формами гемобластозов основывается на новейших технологиях, включая трансплантацию костного мозга, и во многом зависит от своевременного и точно установленного диагноза. К сожалению, в настоящее время в связи с низким уровнем материально-технического обеспечения и недостаточным кадровым потенциалом в большинстве специальных учреждений не удается обеспечить современный уровень диагностики гемобластозов (иммунофенотипирование, иммуноцитохимические и молекулярно-генетические исследования).

В этом плане, по нашему мнению, определенный интерес может представить анализ работы Референтной лаборатории (РЛ) по диагностике онкогематологических заболеваний, созданной в конце 1992 г. на базе отдела иммуноцитохимии Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины и Всеукраинского благотворительного фонда «Гематопатологи для больных со злокачественными заболеваниями крови».

Первоначально РЛ осуществляла свою деятельность в составе Украинской группы детской лейкемии, в которую вошли детские гематологи 14-й детской специализированной клини-

ческой больницы г. Киева (ныне детское научно-лечебное объединение «ОХМАТДЕТ») и 8 областей Украины. В создании РЛ активное участие принимали ведущие специалисты ФРГ (проф. Г. Шеллонг, А. Райтер). Постепенно рамки работы РЛ расширялись, и в настоящее время в области диагностики острых лейкозов мы сотрудничаем с нашими коллегами-клиницистами из г. Киева, АР Крым и 17 областей Украины.

С 1994 г. мы проводим совместную работу с врачами детского онкологического отделения Украинского НИИ онкологии и радиологии МЗ Украины по диагностике лимфогранулематоза, неходжкинских злокачественных лимфом и выявлению метастазов невробластомы в костном мозге.

Одновременно мы проводили диагностические исследования у больных с гемобластозами, находившихся на лечении в 6 гематологических отделениях для взрослых г. Киева и Киевской области. Несколько позднее по просьбе наших коллег-гематологов стали оказывать помощь в диагностике различных форм лейкозов и лимфом у части больных Черкасской, Житомирской и Днепропетровской областей.

Общий объем проведенных исследований представлен в таблице.

Достаточно высокий научный потенциал (среди 9 сотрудников РЛ 3 доктора медицинских наук, авторы монографий и руководств) позволяет проводить диагностические исследования на современном методическом уровне с использованием франко-американо-британской (ФАБ) классификации острых лимфоидных (L1–L3) и миелоидных лейкозов (M0–M8) и миелодиспластических син-

дромов [3–5], иммунологической классификации острых лейкозов, предложенной группой экспертов из ряда европейских стран [6], современных классификаций хронических миело- и лимфолейкозов, предложенных для рассмотрения ВОЗ [7,8], и пересмотренной европейско-американской (REAL) классификации злокачественных лимфом [9]. Всем больным проводят цитоморфологические и цитохимические исследования мазков костного мозга, периферической крови, пунктатов и отпечатков удаленных при биопсии лимфатических узлов. Примерно у 40% больных выполняют иммунофенотипирование лейкоэмических и злокачественно трансформированных клеток с использованием широкой панели моноклональных антител к линейно-специфическим, дифференцировочным и активационным антигенам лейкоцитов. С этой целью используют модифицированные сотрудниками РЛ иммуноферментные цитохимические методы (ЩФАЩФ, АВС-пероксидаза, АВС-щелочная фосфатаза), позволяющие с помощью обычной световой микроскопии идентифицировать природу патологических клеток непосредственно в мазках крови и пунктатов.

Необходимый для исследования материал (не менее 6 мазков периферической крови и 6 мазков костного мозга, мазки из пунктатов лимфатических узлов, новообразований, пробы цельной крови и костного мозга с добавлением гепарина или трилона Б, спинномозговой жидкости, экссудата из серозных полостей), сопровождаемый краткой выпиской из истории болезни с предварительным или предполагаемым диагнозом, присылают в РЛ различными путями — курьером в пределах г. Киева, поездом или автобусом из областей Украины. Своевременную доставку обеспечивают медработники на местах или родственники больных детей.

Сроки проведения исследований не превышают 3–4 дней. Информацию об установленном в РЛ окончательном диагнозе передают в соответствующие онкогематологические отделения по телефону, факсу, а затем в виде письменного заключения на бланке соответствующей формы.

Анализ различных форм острых лейкозов у детей выявил следующее. При острых лейкозах первичный диагноз, установленный в лечебных учреждениях по месту жительства, в 6,5% случаев был принципиально изменен (вместо ОЛЛ — один из вариантов ОМЛ или другое заболевание), в 50% случаев

диагноз был уточнен: установлен вариант ОЛЛ (Т- или не Т-клеточный) и ОМЛ (М1–М7) по цитохимическим признакам бластных клеток или проведено иммунофенотипирование и определен иммунологический вариант ОЛЛ. В 7,9% случаев диагноз ОЛ не подтвердился, в 2,5% случаев диагноз по представленному материалу установить не удалось и потребовалось повторное исследование. Отмечено, что при ОЛЛ у детей преобладает L1-вариант (81,2%), тогда как L2- и L3-варианты наблюдаются значительно реже (14,1 и 4,7% соответственно). ОЛЛ из клеток — предшественников В-лимфоцитов составляет большинство случаев ОЛЛ (86,9%). У большинства детей при цитоморфологическом и цитохимическом исследовании мазков периферической крови и костного мозга удалось четко выделить формы заболевания лимфоидного и миелоидного происхождения. Полученные результаты очень важны в прогностическом плане и при выборе соответствующих схем терапии. Так, при лечении детей с L1- и L2-вариантами ОЛЛ (80–85% всех острых лейкозов у детей) по протоколам БФМ-90 в ведущих детских онкогематологических отделениях Украины удалось добиться существенного повышения уровня 5-летней выживаемости детей (с 7–10 до 73,8%) и приблизиться к показателям, достигнутым в таких странах, как США, Германия, Франция.

Чрезвычайно важным с практической точки зрения было выделение L3-варианта ОЛЛ (В-ОЛЛ или Беркиттоподобной неходжкинской злокачественной лимфомы в стадии лейкоемизации), характеризующегося крайне злокачественным течением, для которого существует особый протокол терапии. В ряде случаев, учитывая субъективность оценки цитоморфологических признаков субстратных клеток, приходилось прибегать к иммунофенотипированию (μ-цепи иммуноглобулинов в цитоплазме, экспрессия антигенов CD19, CD20 на поверхностных мембранах клеток).

При острых лейкозах миелоидного происхождения проводить иммунофенотипирование для установления природы патологических клеток приходилось прежде всего при ОМЛ М0 (наименее дифференцированные пероксидазоотрицательные бласты), ОМЛ М6 (острый эритролейкоз) и ОМЛ М7 (острый мегакариобластный лейкоз). Прогноз и эффективность терапии при указанных и других вариантах ОМЛ, на долю которых приходится 15–20% всех острых лейкозов, значительно хуже, чем при ОЛЛ.

Таблица

Общее количество больных с гемобластомами, обследованных в Референтной лаборатории в 1993–1999 гг.

Лечебные учреждения	1993 г.	1994 г.	1995 г.	1996 г.	1997 г.	1998 г.	1999 г.
<b>г. Киев</b>							
Клиническая больница № 9 (1-е и 2-е отделения)	82	86	99	118	138	152	245
ДНПО «ОХМАТДЕТ»	70	127	117	93	132	91	81
Украинский НИИ онкологии и радиологии МЗ Украины (детское отделение)	—	112	100	135	161	154	203
<b>Киевская область</b>							
Киевская областная больница № 1							
Гематологическое отделение для взрослых	54	55	65	67	58	54	85
Детское гематологическое отделение	18	22	32	21	35	23	32
Киевская областная больница № 2, Гематологическое отделение для взрослых	—	—	—	38	43	35	42
<b>Детские онкологические отделения областей Украины и АР Крым</b>							
Всего	296	545	553	605	792	722	1020*

\* Включая 88 взрослых больных из других лечебных учреждений г. Киева, Житомирской, Черкасской и Днепропетровской областей.

Важным аспектом исследований у детей являлась дифференциальная диагностика метастазов невробластомы в костном мозге и острых лейкозов на основе результатов цитохимического и иммуноцитологического анализа с использованием мкАТ к ряду опухолеассоциированных антигенов.

Наибольшим достижением в диагностике гемобластозов у взрослых можно считать выделение различных форм хронических лимфопролиферативных заболеваний. Помимо В-клеточного хронического лимфолейкоза (на долю которого приходится около 30% всех лейкозов) при использовании современных технологий у обследованных больных были идентифицированы такие нозологические формы, как Т- и В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз, волосатоклеточный лейкоз, лимфома селезенки с ворсинчатыми лимфоцитами, неходжкинская злокачественная лимфома в лейкоэмической фазе, лейкоз из больших гранулодержащих лимфоцитов и синдром Сезари [10]. В настоящее время внесено много изменений в стандартные схемы терапии, и уточненное выделение отдельных форм и цитологических вариантов заболеваний позволяет надеяться на значительное увеличение продолжительности жизни больных.

Большое внимание уделяется морфоцитохимической и иммунофенотипической характеристике лейкозов, развившихся у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС. На протяжении 1995–1999 гг. из 102 ликвидаторов с подозрением на наличие злокачественных заболеваний крови МДС (предлейкозы) и различные виды лейкозов, включая и редко встречающиеся формы, были диагностированы у 57 больных, а у 45 — выявлены другие нарушения гемопоэза.

В деятельности РЛ важное место занимает подготовка специалистов на рабочих местах, совершенствование исследований, использование новых молекулярно-генетических методов, постоянная публикация результатов в научной периодической литературе, издание методических рекомендаций в серии «Семинары по гематопатологии», подготовка и проведение научно-методических семинаров, выступление с докладами на научно-практических конференциях.

В целом, необходимо отметить, что по масштабам и уровню проводимых исследований РЛ не уступает подобным центрам, функционирующим в Великобритании, Германии и Испании (последний создан на средства фонда, основанного Х. Каррерасом). Число детей, у которых проводят уточненную диагностику гемобластозов, составляет около 50–60% пациентов со злокачественными новообразованиями всех локализаций, ежегодно выявляемых в Украине. Достаточно высок и процент охвата больных — жителей г. Киева и Киевской области.

Мы полагаем, что накопленный нами опыт может быть использован и в других регионах. В постчернобыльской ситуации уточненная диагностика гемобластозов, как и злокачественных новообразований различной локализации приобретает особое значение. В ближайшее время в Украине следует создать 3–4 подобных диагнос-

тических центра. Средства, необходимые для их оснащения оборудованием и реактивами, подготовки высококвалифицированных кадров, не столь уж велики. Но без этого невозможно применение новых методов эффективной терапии.

В заключение хотим выразить благодарность организациям, оказывающим постоянную поддержку в работе РЛ: Киевской городской государственной администрации (А.А. Омельченко, В.Г. Бидный), Главному управлению здравоохранения г. Киева (Р.Н. Макомела, В.В. Бычков), Французскому медицинскому центру «Дети Чернобыля» (М.-Л. Симоне), д-ру Н. Имамура (Хиросима, Япония).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Федоренко ЗП, Войкшнарас ОБ, Гуселетова НВ та ін. Стан протиракової боротьби та медико-статистичний аналіз розповсюдження злоякісних новоутворень в Україні в 1992–1994 рр., Київ, 1995. 21 с.
2. Горбань ЄМ, Перехрестенко ПМ, Новак ВЛ, Масляк ЗВ. Стан та перспективи розвитку гематології в Україні. Укр мед часопис 1998; 3: 71–2.
3. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French—American—British (FAB) co-operative group. Br J Haematol 1976; 33: 451–8.
4. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French—American—British Cooperative Group. Ann Intern Med 1985; 103: 620–5.
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML-MO). Br J Haematol 1991; 78: 325–9.
6. Бене МК, Кастольди Г, Напп В и др. Предложения для иммунологической классификации острых лейкозов. Гематол и трансфузиол 1996; (6): 43–5.
7. Bain BJ. Leukemia diagnosis. 2d ed. Oxford: Blackwell Sci Ltd, 1999. 200 p.
8. Kroft SH, Finn WG, Peterson LN. The pathology of the chronic lymphoid leukaemias. Blood Rev 1995; 9: 234–50.
9. Mason DY, Harris NL, eds. Human Lymphoma: Clinical Implications of the REAL Classification. London, Berlin, Heidelberg: Springer —Verlag, 1999. 554 p.
10. Глузман ДФ, Абраменко ИВ, Скляренко ЛМ, Надгорная ВА. Лабораторная диагностика онкогематологических заболеваний. Киев: Морион, 1998. 336 с.

## REFERENCE LABORATORY FOR DIAGNOSIS OF ONCOHEMATOLOGICAL DISEASES: 7-YEAR'S EXPERIENCE OF WORKING

D.F. Gluzman, L.M. Sklyarenko, I.V. Abramenko, V.A. Nadgornaya, N.I. Bilous, L.Yu. Poludnenko, N.I. Grebelnaya, S.V. Yaremenko

**Summary.** The data on use of morphocytochemical and immunological methods in diagnosis of malignant diseases of hemopoietic and lymphoid tissues are presented. During 7 years, 4533 patients (including children) with acute myeloid and lymphoid leukemias from Kiev city, 17 regions of Ukraine and Republic of Crimea were studied. The delineation of different forms and cytological variants of hemoblastoses on the basis of up-to-date classifications is of utmost importance for disease prognosis as well as the optimization of the therapy.

**Key Words:** hemoblastoses, cytochemistry, immunophenotyping, monoclonal antibodies.