

КЛИНИЧЕСКИЕ НАБЛЮДЕНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.155.392-036.11-02:614.876

Нугис В.Ю., Галстян И.А., Суворова Л.А., Надёжина Н.М., Давтян А.А., Никитина В.А.,
Козлова М.Г., Дубовой Д.А., Добровольская Е.И., Власова И.В.

СЛУЧАЙ ОСТРОГО ЛЕЙКОЗА У ОБЛУЧЕННОГО ВО ВРЕМЯ АВАРИИ ПАЦИЕНТА С ВЫЯВЛЕННЫМИ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИМИ КЛОНАМИ В КОСТНОМ МОЗГЕ

ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический
центр им. А.И. Бурназяна» ФМБА России, 123182, г. Москва, Россия

Развитие гемобластозов часто связано с влиянием различных генотоксических неблагоприятных факторов, в частности, с воздействием ионизирующих излучений. В настоящей работе рассмотрен случай развития острого лейкоза у пациента, пострадавшего при аварии на Чернобыльской АЭС 30 лет назад и перенесшего острую лучевую болезнь II степени тяжести. Средняя поглощенная доза была оценена по частоте дицентриков в культуре лимфоцитов периферической крови и равнялась 4,3 Гр. При последующем длительном клиническом наблюдении (27 лет) выявлена умеренная преходящая нестабильность гематологических показателей (лимфоцитоз, лейкопения и тромбоцитопения), которая связывалась с хроническим персистирующим гепатитом. С помощью трехцветного FISH-окрашивания хромосом культивируемых лимфоцитов периферической крови через 30,1–30,5 года после облучения установлено, что уровень транслокаций в 42–54 раза превышал фоновое значение. В 2014 г. больной перенес трансуретральную резекцию простаты в связи с раком предстательной железы. В мае 2015 г. проведен курс лучевой терапии с суммарной локальной дозой 35 Гр. В декабре 2015 г. появилась общая слабость, позже в общем анализе крови отмечена трехкратная цитопения (эритроциты $3,56 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $2,9 \times 10^9/л$, тромбоциты $90 \times 10^9/л$). Диагноз: острый миелоидный лейкоз, трансформация из миелодиспластического синдрома. Аномальный комплексный клон выявлен в 38% метафаз с помощью mFISH-метода наряду с другими перестройками хромосом. Больной скончался от двухсторонней пневмонии в марте 2017 г.

Ключевые слова: острый лейкоз; авария на Чернобыльской АЭС; цитогенетика; культура лимфоцитов периферической крови; костный мозг.

Для цитирования: Нугис В.Ю., Галстян И.А., Суворова Л.А., Надёжина Н.М., Давтян А.А., Никитина В.А. и др. Случай острого лейкоза у облученного во время аварии пациента с выявленными цитогенетическими клонами в костном мозге. *Гематология и трансфузиология*. 2017; 62(2): 90-95. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-2-90-95>

Nugis V.Yu., Galstyan I.A., Suvorova L.A., Nadezhina N.M., Davtyan A.A., Nikitina V.A.,
Kozlova M.G., Dubovoy D.A., Dobrovolskaya E.I., Vlasova I.V.

ACUTE LEUKEMIA IN AN EMERGENCY IRRADIATED PATIENT WITH AN IDENTIFIED CYTOGENETIC CLONES IN THE BONE MARROW

Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of FMBA of Russia, Moscow, 123182, Russian Federation

The development of hematological malignancies is often associated with the influence of various genotoxic unfavorable factors, in particular, with the effect of ionizing radiation. The case report of the acute leukemia in a patient suffered from an accident at the Chernobyl nuclear power plant thirty years ago is presented. The average absorbed dose was estimated from the dicentric frequency in peripheral blood lymphocyte culture and was 4.3 Gy. At a subsequent long-term clinical observation (27 years), moderate transient instability of hematological parameters was revealed: lymphocytosis, leukopenia and thrombocytopenia, which were associated with chronic persistent hepatitis. Three-color FISH-staining of chromosomes of cultured peripheral blood lymphocytes through 30.1–30.5 years after irradiation exposure demonstrated the level of translocations significantly in 42–54 times higher background value. In 2014, the patient underwent transurethral resection of the prostate in connection with prostate cancer. In May 2015, a course of radiation therapy with a total local dose of 35 Gy was conducted. In December 2015, there was a general weakness. Cytopenia was noted (RBC $3.56 \times 10^{12}/l$, WBC $2.9 \times 10^9/l$, platelets $90 \times 10^9/l$). Diagnosis: acute myeloid leukemia, transformation from myelodysplastic syndrome. An abnormal complex clone was detected in 38% of metaphases by the mFISH-method along with other chromosome rearrangements. The patient died due to pneumonia in March 2017.

Keywords: acute leukemia; the accident at the Chernobyl NPP; cytogenetics; peripheral blood lymphocytes culture; bone marrow.

For citation: Nugis V.Yu., Galstyan I.A., Suvorova L.A., Nadezhina N.M., Davtyan A.A., Nikitina V.A., Kozlova M.G., Dubovoy D.A., Dobrovolskaya E.I., Vlasova I.V. Acute leukemia in an emergency irradiated patient with an identified cytogenetic clones in the bone marrow. *Hematology and Transfusiology. Russian Journal (Gematologiya i transfusiology)*. 2017; 62(2): 90-95/ (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0234-5730-2017-62-2-90-95>

Acknowledgments The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 12 April 2017

Accepted 29 May 2017

Для корреспонденции:

Нугис Владимир Юрьевич, доктор биол. наук, зав. лабораторией радиационной гематологии и цитогенетики ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна», 123182, г. Москва, Россия. E-mail: nugisvju@list.ru.

For correspondence:

Nugis Vladimir Yu., BD, PhD, DSc, head of laboratory of radiation hematology and cytogenetics, State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, 123182, Russian Federation. E-mail: nugisvju@list.ru.

Information about authors:

Nugis V.Yu., <http://orcid.org/0000-0001-7396-0246>; Galstyan I.A., <http://orcid.org/0000-0002-7571-971X>; Suvorova L.A., <http://orcid.org/0000-0001-6412-2638>; Nadezhina N.M., <http://orcid.org/0000-0003-4229-3086>; Nikitina V.A., <http://orcid.org/0000-0002-3150-7686>; Kozlova M.G., <http://orcid.org/0000-0001-8159-0513>; Dubovoy D.A., <http://orcid.org/0000-0003-3584-7888>; Dobrovolskaya E.I., <http://orcid.org/0000-0003-2003-0322>; Vlasova I.V., <http://orcid.org/0000-0003-2602-3932>.

В 2014 г. заболеваемость злокачественными новообразованиями лимфоидной и кроветворной тканей в России равнялась 13,06 на 100 тыс. жителей, в том числе острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) – 0,89 на 100 тыс. населения [1]. Возникновение ОМЛ коррелирует с воздействием различных вредных внешнесредовых и профессиональных агентов, таких как ингаляция бензола, злоупотребление алкоголем, курение, контакт с красителями, гербицидами и пестицидами – все они являются потенциальными факторами риска [2]. Также статистически значимый рост частоты лейкозов выявлен для разных групп населения и работников, подвергшихся воздействию ионизирующих излучений: рентгенологов и радиологов, персонала предприятий атомной промышленности, больных после терапевтического облучения (вторичные лейкозы). Основным первичным источником информации о развитии радиационных лейкозов послужили длительные наблюдения за многотысячной когортой японцев, облученных в широком диапазоне доз при атомной бомбардировке городов Хиросима и Нагасаки в 1945 г. [3–5]. Число пострадавших при этой трагедии было очень велико, что и позволило сделать основной вывод о существен-

ном увеличении частоты лейкозов, которые в обычной популяции в целом встречаются достаточно редко. Также сделан вывод, что характерным является наличие латентного периода длительностью 5–10 лет, хотя лейкозы у облученных людей начали появляться спустя 1,5 года и по-прежнему превышали фоновый уровень даже через 50 лет после бомбардировки [6]. То, что лейкозы выявляются не у всех облученных лиц и только после определенного латентного периода, позволяет предполагать, что радиация в каждом конкретном случае не является единственным действующим фактором.

В 1986 г. произошла радиационная авария на Чернобыльской АЭС. Хотя по числу пострадавших и погибших она не сопоставима с японской трагедией, однако в XX веке это одна из крупнейших техногенных катастроф мирного времени. У непосредственно вовлеченных в нее лиц, которые перенесли острую лучевую болезнь (ОЛБ), обнаружено статистически существенное увеличение заболеваемостью гемобластозами [7]. Недавно, в 2016 г., выявлен еще один случай ОМЛ у участника данной аварийной ситуации, который перенес ОЛБ II (средней) степени тяжести.

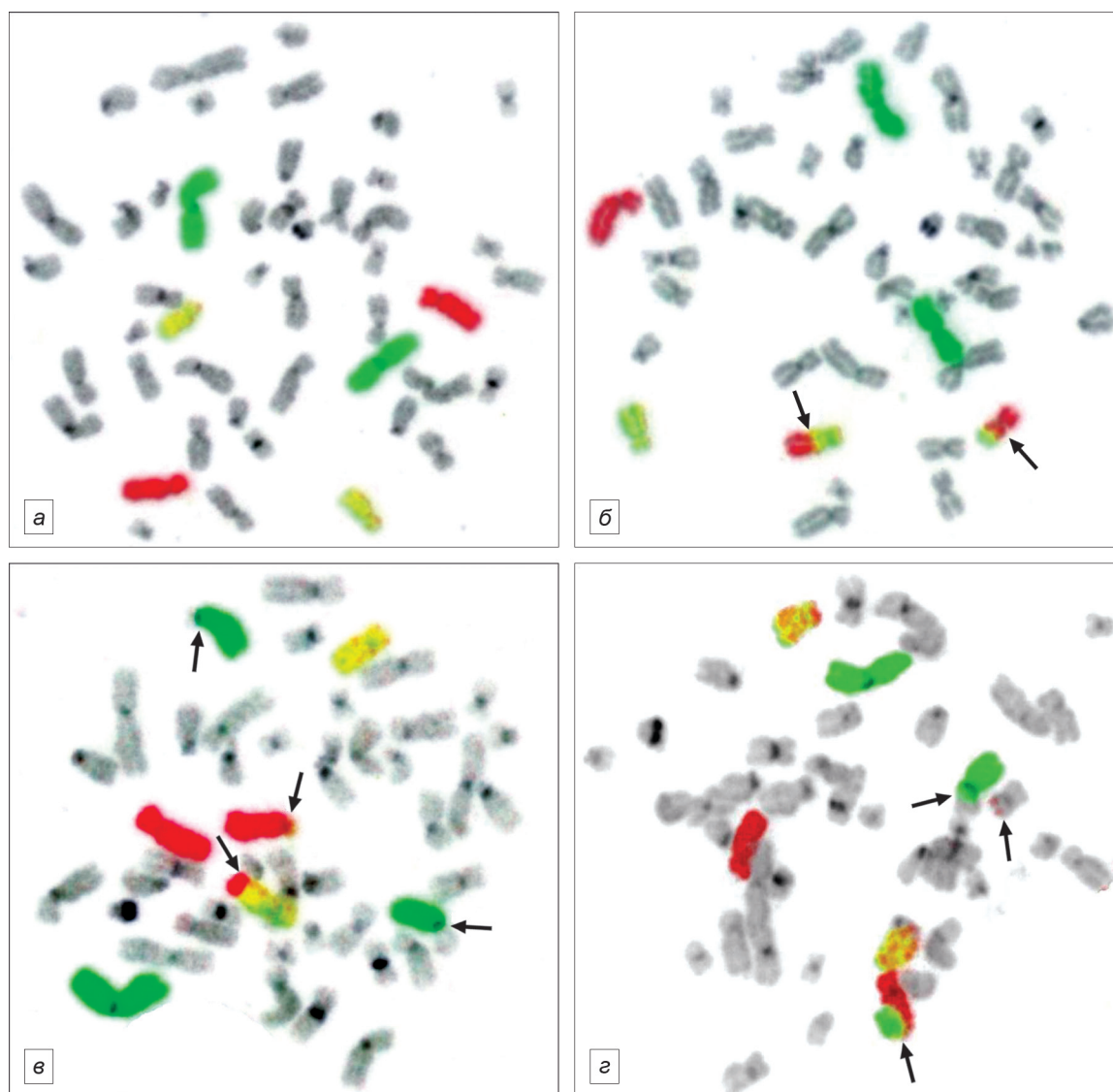


Рис. 1. Метафазы при трехцветном FISH-окрашивании 1-й, 4-й и 12-й пар хромосом:

- а – нормальная метафаза; б – метафаза с транслокацией между 4-й и 12-й хромосомами;
в – метафаза с двумя транслокациями (между 4-й и 12-й и между 1-й и контрокрашенной хромосомами);
г – метафаза с обменом дистальными участками между 1-й, 4-й и контрокрашенной хромосомами.

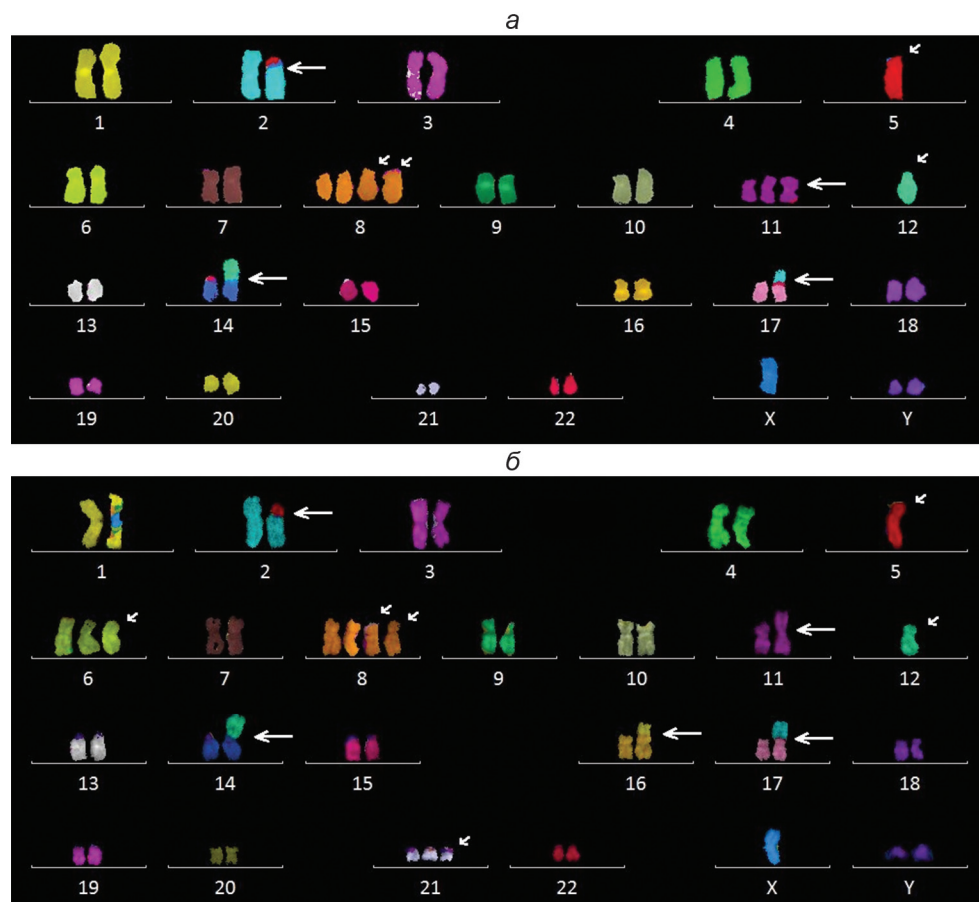


Рис. 2. Кариотипы: 48,XY,t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+8,+8,+psu dic(11;11)(p11.2;p11.2),-12,der(14)t(12;14)(p10;p10) и 49,XY,t(1;16)(?;p13.3),t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+6,+8,+8,-11,+psu dic(11;11)(p11.2;p11.2),-12,der(14)t(12;14)(p10;p10),+21

аномального комплексного клона в костном мозге больного Д. до (а) и после (б) двухкратного курса химиотерапии соответственно (длинными стрелками указаны транслокации и псевдодидцентрик, короткими стрелками – анеуплоидия).

Цель настоящей статьи состоит в описании клинического наблюдения ОМЛ, развившегося в отдаленные сроки после перенесенной ОЛБ, с повторными цитогенетическими исследованиями культур лимфоцитов периферической крови и костного мозга.

Материал и методы

Цитогенетическое исследование культур лимфоцитов периферической крови использовали для регистрации радиационно-индуцированных aberrаций хромосом, сохранившихся в отдаленные сроки после облучения. Для анализа использовали метод трехцветной флуоресцентной гибридизации *in situ*, или метод FISH (англ. fluorescence *in situ* hybridization – FISH). В ближайшие сроки после облучения используют классический анализ, с помощью которого регистрируют в основном aberrации неустойчивого типа, имеющие тенденцию элиминировать с течением времени после облучения.

FISH позволяет более точно по сравнению с классическим методом оценивать реципрокные транслокации, которые сами по себе не представляют препятствия для протекания митоза и поэтому относятся к стабильному типу. Методики культивирования лимфоцитов и приготовления препаратов хромосом описаны ранее [8]. В целом они аналогичны подходам, предлагаемому в рекомендациях МАГАТЭ [9]. Трехцветный FISH-метод в отличие от обычно используемого для ретроспективной оценки дозы одноцветного FISH-метода позволяет регистрировать перестройки не только между FISH-окрашенными и контрокрашенными хромосомами, но и между самими тремя парами FISH-окрашенных хромосом, имеющими в соответствии с названием разных цвет.

В нашей работе отдельно использовались два готовых набора ДНК-зондов к целым хромосомам: 1) № 1, 4 и 12; 2) № 2, 3 и 8 (XSP Mix, прямое мечение green/orange, контрокраситель – DAPI) фирмы “MetaSystems” (Германия). Прилагаемая к наборам фирменная инструкция служила руководством для обработки и окраски препаратов хромосом. Для анализа транслокаций с помощью трехцветной FISH-методики отбирали квазидиплоидные метафазы, где присутствовали все FISH-окрашенные части выбранных трех пар хромосом.

Цитогенетическое исследование клеток костного мозга проводили прямым методом без культивирования, при выполнении которого с некоторыми вариациями опирались на методику, описанную в работе В. Czepulkowski [10]. Для анализа кариотипа осуществляли 24-цветное mFISH-окрашивание с использованием набора ДНК-зондов 24XCyte (“MetaSystems”, Германия). Учитывали метафазы, содержавшие не менее 46 хромосом. В связи с обнаружением тетраплоидного по 8-й хромосоме клона, о чем будет сказано ниже, также выполнен интерфазный FISH-анализ с использованием ДНК-зонда к прицентромерному региону 8-й хромосомы D8Z1 Kreatech Diagnostics (“Leica Biosystems”, Германия). В обоих случаях обработку и окрашивание препаратов проводили в соответствии с прилагаемыми инструкциями.

Поиск метафаз и их анализ осуществляли с помощью автоматизированной системы Метафер 4 (“MetaSystems”, Германия).

Клиническое наблюдение

Больной Д., 1950 г. рождения, во время аварии на Чернобыльской АЭС 26.04.1986 подвергся относительно равномерному γ -облучению, в результате которого развилась клиническая

Таблица 1

Частота FISH-транслокаций и их распределение по клеткам в культурах лимфоцитов периферической крови у больного Д.

№ исследования	Время после облучения, дни/годы	Количество проанализированных клеток	Набор ДНК-зондов	Количество транслокаций		Общее количество транслокаций	Метафазы с количеством транслокаций					Общая частота транслокаций на 100 клеток	Частота транслокаций на 100 клеток на весь геном	Число мультиабберрантных клеток
				полных	неполных		0	1	1,5	2	3			
1	10992/30,1	870	1, 4, 12 трехцветный	157,5	5	162,5	730	119	3	15	3	18,68	54,52	2
2	11132/30,5	498	1, 4, 12 трехцветный	70	3	73	433	58	0	6	1	14,66	42,33	1
3	11132/30,5	860	2, 3, 8 трехцветный	121,5	22	143,5	733	110	1	16	0	16,69	46,79	0

картина костномозговой формы ОЛБ II (средней) степени тяжести. Доза, рассчитанная по динамике количества нейтрофилов периферической крови, равнялась 3,1 Гр. Также в ближайшие сроки после облучения проведено цитогенетическое исследование культур лимфоцитов периферической крови для оценки дозы по средней частоте дицентриков, которая оказалась равной 4,3 Гр. В 2006 г. сигнал электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) эмали зуба соответствовал дозе 4,0 Гр. С учетом статистических погрешностей все три показателя дали близкие оценки полученной дозы.

Предлежкозное клиническое состояние пациента

По данным анамнеза, до аварии у больного диагностировали синдром Жильбера. В сентябре 1986 г. выявлен австралийский антиген и установлен морфологически подтвержденный диагноз хронического персистирующего гепатита (ХПГ). В 1998 г. выявлены антитела к вирусу гепатита С, и проведена терапия интерфероном А. У больного отмечены нарушения со стороны пищеварительного тракта: на протяжении многих лет он страдал хроническим гастритом, с 1988 г. – эрозивным дуоденитом, с 1998 г. – язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с редкими обострениями. В 2004 г. проведен последний курс противоязвенной терапии. В 1998 г. обнаружены лучевая катаракта I степени обоих глаз и узловый зуб. В 1988 г. выявлена нейроциркуляторная дистония, в 2004 г. установлен диагноз гипертонической болезни. Больной на протяжении многих лет страдал хроническими тонзиллитом и бронхитом с ежегодными обострениями. Оперирован по поводу базально-клеточного рака кожи различной локализации в 2012, 2014 и 2015 гг.

Длительное наблюдение в течение 27 лет за гематологическими показателями периферической крови выявляло нормальные показатели числа эритроцитов и лейкоцитов. Периодически наблюдался умеренный нейтрофилез, что связывалось с обострением хронических заболеваний (хронические тонзиллит и бронхит). Наиболее лабильными оказались показатели количества лимфоцитов и тромбоцитов. Часто наблюдались лимфоцитоз и лимфопения с практически постоянной умеренной преходящей тромбоцитопенией, которую рассматривали как проявление ХПГ.

При гистологическом исследовании материала, полученного при проведении трансуретральной резекции простаты по поводу доброкачественной гиперплазии, в 2014 г. у больного выявлен рак предстательной железы T1NxMx. Курс лучевой терапии (суммарная локальная доза 35 Гр) проведен в мае 2015 г.

Онкогематологическое заболевание

По данным амбулаторного наблюдения, в декабре 2015 г. больной стал жаловаться на общую слабость, одышку при физической нагрузке (подъем по лестнице). Общий анализ крови выявил трехкостковую цитопению: эритроциты $3,56 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $2,9 \times 10^9/л$, тромбоциты $90 \times 10^9/л$. С 25.05 по 06.06.16 г. больной находился в терапевтическом профпатологическом отделении ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Буназьяна ФМБА России. По данным цитологического исследования аспирата костного мозга (бластоз 21%, бластные клетки относились к различным линиям дифференцировки с умеренной морфодисплазией) и иммунофенотипирования (соответствие ОМЛ) установлен диагноз миелодиспластического синдрома (МДС): рефракторная анемия с избытком бластных клеток и бластной трансформацией (РАИБТ-II)/острый миелолейкоз; трансформация из МДС.

Для проведения лечения больного перевели в гематологическое отделение, где ему в июне 2016 г. выполнен первый курс цитостатической терапии 5-азациитидином (Вайдаза). В июле 2016 – феврале 2017 г. проведено еще 6 аналогичных курсов химиотерапии. 15.03.17 больной Д. скончался в Городской клинической больнице № 52 от двусторонней пневмонии.

После выявления гомобластога был проведен двухкратный цитогенетический анализ культур лимфоцитов периферической крови с использованием трехцветного FISH-метода. Сначала (через 30,1 года после облучения) применяли только набор ДНК-зондов для 1-й, 4-й и 12-й пар хромосом (до начала лечения цитостатиком). Во второй раз (через 30,5 года после облучения) использовали отдельно оба указанных выше набора ДНК-зондов (после двух курсов лечения Вайдазой). Во всех случаях основную массу обнаруженных аббераций составляли реципрокные транслокации. Их количество, частота на 100 проанализированных клеток, геномная частота на 100 клеток (расчет по формуле из рекомендаций МАГАТЭ [9]) и распределение по клеткам даны в табл. 1. Частота транслокаций на геном была значимо выше (в 42–54 раза) возрастного контроля, который в среднем, по данным C. Whitehouse и соавт. [11], составляет 1,008 на 100 метафаз, что свидетельствует о сохранении стабильных радиационно-индуцированных аббераций более чем через 30 лет после облучения. С гораздо более низкой частотой (на 100 метафаз) наблюдались также другие (стабильные и нестабильные) перестройки хромосом: инсерции (0,12–0,4), инверсии (0,12–0,23), дицентрики (0,2–1,15), центрические кольца (0–0,12), ацентрики (1,0–1,49).

В табл. 1 также приведено число обнаруженных единичных мультиабберантных клеток, которые скорее всего являются последствием локальной лучевой терапии.

На рис. 1 представлены несколько метафаз с трехцветной FISH-окраской: нормальная метафаза (а), метафаза с транслокацией между 4-й и 12-й хромосомами (б), метафаза с двумя транслокациями – между 4-й и 12-й, а также между 1-й и контрокрашенной хромосомами (в) и метафаза с интересным «круговым» обменом дистальными участками между тремя разноокрашенными хромосомами – 1-й, 4-й и контрокрашенной (г). В этом последнем случае происходит три разрыва в трех хромосомах, что может быть зарегистрировано только при рассматриваемом варианте FISH-метода. Возникает вопрос: сколько же происходит в этом случае транслокаций? Действительно, при одной обычной транслокации происходит два разрыва в двух хромосомах, при двух независимых транслокациях – четыре разрыва в четырех хромосомах. Поэтому мы посчитали возможным обозначить обнаруженный феномен как 1,5 транслокации, хотя в статье Y. Suto и соавт. [12] предлагают считать, что имеется 2 транслокации. Сравнение распределений транслокаций по метафазам при выделении трех классов клеток (с отсутствием, одной и больше чем одной транслокацией) показало отсутствие существенных различий по этому показателю между культурами, поставленными в разные сроки и при использовании разных наборов ДНК-зондов ($\chi^2 = 0,08$ – $2,93$ при $\chi^2_{05} = 5,99$), хотя первый анализ был проведен до начала лечения, а второй после двух курсов химиотерапии. Это свидетельствует, по-видимому, об отсутствии влияния Вайдазы на частоту транслокаций в хромосомах лимфоцитов периферической крови человека.

Таблица 2

Результаты кариотипирования метафазных клеток костного мозга с помощью mFISH-метода

№	Количество метафаз	Кариотип
1	21	47~48, XYY,t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+8,+8,+psu dic(11;11)(p11.2;p11.2),-12,der(14)t(12;14)(p10;p10)[cp5]/48, XYY, t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+8,+8,+11,-12,der(14)t(12;14)(p10;p10)/48, XYY,t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+8,+8,+t(11;18)(p10;p10),-12,der(14)t(12;14)(p10;p10)/47, XYY,t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+8,+8,+t(11;22)(?;q13),-12, der(14)t(12;14)(p10;p10),t(13;18)(p10;p10),-18/46,XY,t(2;3)(p21;p21),inv(3)(?) /46,XY,t(2;11)(p21;q13)/46,XY,t(2;20)(q34;p11)/ 46,XY,t(9;16)(p22;q12.1),t(18;22)(q22;q12) / 46,XY,del(9)(q11)/46,XY,+chr(3)(p10)/46,XY[7]
2	52	48~49, XYY,t(1;16)(?;p13.3),t(2;5)(p12;?),t(2;17)(p12;p13),-5(?),+6,+8,+8,-11,+psu dic(11;11)(p11.2;p11.2),-12,der(14) t(12;14)(p10;p10),+21[cp2]/46,XY,t(3;4)(p21;q31)[2]/45~46,XY,t(1;16)(q12;p13.3),t(2;4)(q22;q22),t(8;9)(q24;q31)[cp3]/45,XY, t(1;16)(q12;p13.3),t(7;12)(q31;p13)/46,XY,t(9;16)(p22;q12.1),t(18;22)(q21;q12)/46,XY,t(7;19)(q22;q13.1),t(9;16)(p22;q12.1)/ 45,Y,t(X;8)(q23;q23),t(16;19)(q13;q12),-22/45,XY,t(18;20)(q21;p12),-20/46,XY,t(1;10)(q21;p14)/46,XY,t(1;6)(q43;q23) / 46,XY,der(18)t(18;20)(q22;q21),der(20)t(14;18;20)(p11;q22;q12)/45,XY,t(19;22)(q13;q12),-21/43,XY,t(3;11)(p21;p12),-11,-21,-22/ 46,XY,t(2;18)(p24;q22)/ 45,Y,-X,t(1;16)(q13;q22)/46,XY,t(1;21)(p34;q22)/46,XY,der(1)inv(1)(?) /45,XY,del(6)(q22),-10,der(13) ins(6;13)(q22;p13;q22)/46,XY,chr(2)/44-46,XY[29]

В табл. 2 приведены результаты кариотипирования 21 клетки костного мозга с помощью mFISH-метода до начала лечения. Как можно заметить, в костном мозге обнаружены 8 аномальных комплексных метафаз, в том числе с тетрасомией по 8-й хромосоме (клон и субклоны?), что составляет 38% среди всех аномальных клеток. Для оценки содержания аналогичных клональных клеток в интерфазе, как указывалось выше, был использован ДНК-зонд к прицентромерному региону 8-й хромосомы. Просмотрено 270 интерфазных ядер, из которых 115 имели тетрасомию по 8-й хромосоме и 155 были диплоидны, что дает 43%. При сравнении по точному методу Фишера значимого различия между метафазным и интерфазным подходами ($p = 0,138$) не наблюдается. После двух курсов химиотерапии через 130 дней после первого анализа было выполнено еще одно цитогенетическое исследование клеток костного мозга с помощью mFISH-метода. Всего проанализированы 52 метафазы. Результаты кариотипирования также приведены в табл. 2. На рис. 2 представлены кариотипы аномального комплексного клона в костном мозге больного до и после двухкратного курса химиотерапии соответственно.

Обсуждение

Как уже указывалось выше, в культурах лимфоцитов периферической крови больного Д., в 1986 г. подвергнувшегося острому облучению при аварии на Чернобыльской АЭС, наблюдалась высокая частота транслокаций, являющихся показателем перенесенного более 30 лет назад радиационного воздействия. Несомненно, что аналогичные перестройки хромосом в той или иной степени должны наблюдаться и в других формирующих организм человека клеточных популяциях, несмотря на все имеющиеся между ними различия. При этом стабильные aberrации хромосом являются одним из источников злокачественной трансформации клеток. При первичном цитогенетическом обследовании костного мозга больного до начала лечения был обнаружен аномальный клон, зарегистрированный как при метафазном mFISH-анализе (mFISH-метод рекомендуется для уточнения результатов G-бэндинга [13]), так и при интерфазном FISH-исследовании примерно с одинаковой частотой. По своим цитогенетическим показателям этот клон имел сложный (комплексный) характер (см. табл. 2), включающий числовые и структурные перестройки хромосом, что связано с неблагоприятным клиническим прогнозом [14]. При этом наблюдалась полная или частичная моносомия по 5-й хромосоме (неясно происхождение материала 5-й хромосомы, транслоцированного на 2-ю хромосому), что само по себе (в изолированном состоянии) также является неблагоприятным признаком. Также была обнаружена тетрасомия по 8-й хромосоме, которая в изолированном виде при ОМЛ встречается зна-

чительно реже трисомии, а медиана доживания при ее наличии составляет 15 мес [15]. Интересно наблюдение псевдодидецентрика, образованного двумя 11-й хромосомами (существование такой структуры в клоне обусловлено инактивацией одной из центромер, к которой не прикрепляются нити ахроматинового веретена). В результате можно говорить о квазитетрасомии по 11-й хромосоме. Отметим, что появление дополнительной 11-й хромосомы или ее участка 11q в составе комплексного кариотипа характерно для МДС и ОМЛ [16]. Такие комплексные кариотипы являются продуктом клоновой эволюции. Какая именно перестройка сыграла пусковую роль – остается только догадываться. Исходя из общих соображений, скорее всего, это была потеря одной 5-й хромосомы. После двух курсов химиотерапии частота комплексного клона уменьшилась, однако он, по-видимому, продолжил свою эволюцию, и появились другие, хотя и малочисленные, клоны. Все это в совокупности позволяло сомневаться в успехе терапии у больного Д.

Другой аспект данного исследования состоит в рассмотрении этиологии и патогенеза развившегося ОМЛ. Как уже указывалось выше, регистрация лейкозогенного эффекта облучения на популяционном уровне несомненна [3–7]. Одновременно на протяжении всего 30-летнего пострадиационного периода наблюдения пациента у него выявлялись маркеры вирусов гепатита В и С. Онкогенные свойства последнего подтверждены рядом эпидемиологических исследований в отношении гепатоцеллюлярной карциномы, неходжкинских лимфом, парапротеинемических гемобластозов и ОМЛ [17–21]. Вместе с тем есть публикации, в которых такая связь отрицается [22].

Возвращаясь к радиационному фактору, надо отметить третье возможное звено патогенеза ОМЛ у больного Д., которому за 6 мес до выявления треххромостковой цитопении была проведена локальная γ -терапия по поводу рака предстательной железы в суммарной дозе 35 Гр. По данным Т. Radivoyevitch и соавт. [23], после этой процедуры пик увеличения относительного риска развития ОМЛ и МДС приходится на 1,5–2,5 года после облучения. В то же время количество наблюдений невелико, что позволяет допустить более раннее возникновение этого риска.

Таким образом, все перечисленные факторы могли способствовать формированию лейкозного клона у больного Д. Хотя после радиационного воздействия прошло 30 лет, а длительность латентного периода для большинства случаев радиационного лейкоза, как было указано выше, составляет 5–10 лет, мы считаем возможным утверждать, что вклад первичного аварийного радиационного воздействия несомненен. По-видимому, косвенно о

радиационно-индуцированном характере ОМЛ может свидетельствовать и набор хромосомных изменений в комплексном кариотипе клона (полная или частичная моносомия по 5-й хромосоме, псевдодидецентрик). Биологический фактор в виде длительной персистенции в организме вируса гепатита С мог сыграть роль промотора для возникновения опухолевых клонов как при развития солидного новообразования в виде рака простаты, так и при злокачественной трансформации в кроветворных клетках. Курс γ-терапии в мае 2015 г. при всей локальности воздействия также мог стать дополнительным разрешающим фактором, приведшим к клинической манифестации лейкоза.

Рассмотрен случай развития ОМЛ у больного, ранее подвергнутого радиационному воздействию при аварии на Чернобыльской АЭС. Использование mFISH-метода позволило выявить в костном мозге пациента патологический комплексный клон клеток. Проведенный анализ позволяет с высокой вероятностью заключить, что данный случай лейкоза является полиэтиологическим заболеванием с решающей ролью первичного аварийного радиационного воздействия.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В., ред. *Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность)*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; 2016.
- Суворова Л.А., Галстян И.А., Надежина Н.М., Нугис В.Ю. Онкогематологические заболевания у перенесших острую лучевую болезнь. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2008; 53(5): 26–34.
- Нугис В.Ю., Козлова М.Г. Цитогенетические исследования в двух ситуациях обнаружения неконтролируемых источников ионизирующего излучения. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2015; 60(2): 37–46.
- Матвеева Е.А., Казакова А.Н., Калинина И.И., Дубровина М.Э., Байдун Л.В., Масчан М.А. и др. Методы молекулярной цитогенетики для диагностики острого мегакариобластного лейкоза. *Онкогематология*. 2012; 7(2): 51–6.
- Ольшанская Ю.В., Домрачева Е.В. *Хромосомные перестройки при острых лейкозах*. М.: МЕДпресс-информ; 2006.

Остальные источники литературы см. в References.

REFERENCES

- Suvorova L.A., Galstyan I.A., Nadezhina N.M., Nugis V.Yu. Hematological malignancies of acute radiation syndrome survivors. *Russian Journal of Medical Radiology and Radiation Safety (Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost)*. 2008; 53(5): 26–34. (in Russian)
- Nugis V.Yu., Kozlova M.G. Cytogenetic researches in two cases of unregulated ionizing radiation source finding. *Russian Journal of Medical Radiology and Radiation Safety (Meditsinskaya Radiologiya i Radiatsionnaya Bezopasnost)*. 2015; 60(2): 37–46. (in Russian)
- Cytogenetic dosimetry: applications in preparedness for and response to radiation emergencies. Vienna: IAEA; 2011.
- Czepulkowski B. Ch. 1. Basic techniques for the preparation and analysis of chromosomes from bone marrow and leukaemic blood. In: Rooney D.E., ed. *Human cytogenetics: malignancy and acquired abnormalities*. Oxford New York: Oxford University Press; 2001: 1–26.
- Whitehouse C.A., Edwards A.A., Tawn E.J., Stephan G., Oestreicher U., Moquet J.E., et al. Translocation yields in peripheral blood lymphocytes from control populations. *Int. J. Radiat. Biol.* 2005; 81(2): 139–45.
- Suto Y., Akiyama M., Noda T., Hirai M. Construction of a cytogenetic dose-response curve for low-dose range gamma-irradiation in human peripheral blood lymphocytes using three-color FISH. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.* 2015; 794: 32–8.
- Matveeva E.A., Kazakova A.N., Kalinina I.I., Dubrovina M.E., Baydun L.V., Maschan M.A., et al. Molecular cytogenetics for acute megakaryocytic leukemia diagnosis. *Oncohematology. Russian Journal (Onkogematologiy)*. 2012; 7(2): 51–6. (in Russian)
- Olshanskaya Yu.V., Domracheva E.V. *Chromosomal rearrangements in acute leukemia: A reference guide*. Moscow: MEDpress-inform; 2006. (in Russian)
- Theisen O., Lai J.L., Nibourel O., Roche-Lestienne C. Isolated tetrasomy 8 in AML, MDS and MPD. *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 2009; 13(9): 671–2.
- Trost D., Hildebrandt D., Beier B.M., Muller N., Germing U., Royer-Pokora B. Molecular cytogenetic profiling of complex karyotypes in primary myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2006; 165(1): 51–63.
- Anderson L.A., Pfeiffer R., Warren J.L., Landgren O., Gadalla S., Berndt S.I., et al. Hematopoietic malignancies associated with viral and alcoholic hepatitis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2008; 17(11): 3069–75.
- Bianco E., Marcucci F., Mele A., Musto P., Cotichini R., Sanpaolo M.G., et al.; Italian Multi-Center case-control study. Prevalence of hepatitis C virus infection in lymphoproliferative diseases other than B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and in myeloproliferative diseases: an Italian multi-center case-control study. *Haematologica*. 2004; 89(1): 70–6.
- Gentile G., Mele A., Monarca B. et al. Hepatitis B and C viruses, human T-cells lymphotropic virus type I and II, and leukemias: a case-control study. The Italian Leukemia Study Group. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 1996; 5(3): 227–30.
- Fiorino S., Bacchi-Reggiani L., de Biase D., Fornelli A., Masetti M., Tura A., et al. Possible association between hepatitis C virus and malignancies different from hepatocellular carcinoma: A systematic review. *World J. Gastroenterol.* 2015; 21(45): 12896–953.
- Kedia S., Bhatt V.R., Rajan S.K., Tandra P.K., El Behery R.A., Akhtari M. Benign and malignant hematological manifestations of chronic hepatitis C virus infection. *Int. J. Prev. Med.* 2014; 5(Suppl. 3): S179–92.
- Murashige N., Kami M., Iwata H., Kishi Y., Matsuo K. No relationship between hepatitis C infection and risk of myeloid malignancy. *Haematologica*. 2005; 90(4): 572–4.
- Radvoyevitch T., Sachs R.K., Gale R.P., Molenaar R.J., Brenner D.J., Hill B.T., et al. Defining AML and MDS second cancer risk dynamics after diagnoses of first cancers treated or not with radiation. *Leukemia*. 2016; 30(2): 285–94.

Поступила 12.04.17

Принята к печати 29.05.17